

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局(43) 国際公開日  
2004年1月15日 (15.01.2004)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 2004/005515 A1(51) 国際特許分類<sup>7</sup>: C12N 15/29, C12Q 1/68 // A01H 1/00

(21) 国際出願番号: PCT/JP2003/003154

(22) 国際出願日: 2003年3月17日 (17.03.2003)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:  
特願2002-197560 2002年7月5日 (05.07.2002) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 日本たばこ産業株式会社 (JAPAN TOBACCO INC.) [JP/JP]; 〒105-8422 東京都港区虎ノ門2丁目2番1号 Tokyo (JP). シンジェンタ リミテッド (SYNGENTA LIMITED) [GB/GB]; GU2 7YH サリー ギルドフォード サリー・リサーチ・パーク プリーストリー・ロード ヨーロピアン・リージョナル・センター Surrey (GB).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 小森 俊之 (KOMORI, Toshiyuki) [JP/JP]; 〒438-0802 静岡県 磐田郡 豊田町 東原 700 番地 日本たばこ産業株式会社 植物イノベーションセンター内 Shizuoka (JP). 高倉 由光 (TAKAKURA, Yoshimitsu) [JP/JP]; 〒438-0802 静岡県 磐田郡 豊田町 東原 700 番地 日本たばこ産業株式会社 植物イノベーションセンター内 Shizuoka (JP). 樋江井 祐弘 (HIEI, Yuko) [JP/JP]; 〒438-0802 静岡県 磐田郡 豊田町 東原 700 番地 日本たばこ産業株式会社 植物イノベーションセンター内 Shizuoka (JP). 鈴木 庄一 (SUZUKI, Shoichi) [JP/JP]; 〒323-0808

栃木県 小山市 大字出井 1900 日本たばこ産業株式会社 たばこ事業本部内 Tochigi (JP). 倉屋 芳樹 (KURAYA, Yoshiki) [JP/JP]; 〒323-0808 栃木県 小山市 大字出井 1900 日本たばこ産業株式会社 たばこ事業本部内 Tochigi (JP).

(74) 代理人: 社本 一夫, 外 (SHAMOTO, Ichio et al.); 〒100-0004 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル 206 区 ユアサハラ法律特許事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:  
— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: STERILITY RECOVERY GENES TO RICE BT TYPE MALE STERILE CYTOPLASM

(54) 発明の名称: イネBT型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子

(57) Abstract: It is intended to provide sterility recovery genes to rice BT type male sterile cytoplasm. A gene encoding a nucleic acid which has the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:75 or an amino acid sequence having at least a 70% homology with the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:75 and having an ability to restore sterility. It is preferable that the gene has a base sequence represented by any of SEQ ID NOS:69 to 74 and 80 to 85 or the base sequence represented by base nos. 43907 to 46279 in SEQ ID NO:27.

(57) 要約: 本発明は、イネBT型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子を提供することを目的とする。本発明の遺伝子は、配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸を含む。本発明の遺伝子は、好ましくは配列番号69-74、80-85又は配列番号27の塩基43907-46279に記載の塩基配列を有する。

BEST AVAILABLE COPY

WO 2004/005515 A1

## 明細書

## イネBT型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子

5 発明の詳細な説明技術分野

本発明は、イネBT型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子に関する。

本出願は、2002年7月5日に提出された日本特許出願 特願2002-107560号を基礎とする優先権主張出願である。当該日本特許出願の内容は全  
10 て本明細書に援用される。

背景技術

イネは自殖性植物であるため、品種間で交雑を行う場合には、まず自家受精を避けるためにイネの穎花が開花する直前に穎花内の雄しべを全て取り除き、次いで交雑をする花粉親品種由来の花粉を用いて受精させる必要がある。しかしながら、このような手作業による交雑方法で商業的規模での大量の雑種種子を生産することは不可能である。  
15

そこで、ハイブリッドライスの生産には、細胞質雄性不稔を利用する三系法が利用されている。三系法とは、雄性不稔細胞質を保有する系統である不稔系統、Rf-1遺伝子を保有する系統である回復系統、および核遺伝子是不稔系統と同一であって不稔細胞質を保有しない系統である維持系統とを使用する方法をいう。これらの3系統を用いて、(i) 不稔系統に回復系統の花粉を受精させることによりハイブリッド種子を獲得することができ、(ii) 一方、不稔系統に維持系統の花粉を受精させることにより不稔系統を維持することができる。  
20

三系法でBT型雄性不稔細胞質を利用するにあたっては、回復系統のイネを育成するために、育種における各過程で育成中のイネがRf-1遺伝子を保有すること、また、最終段階ではRf-1遺伝子をホモで保有することを確認する必要がある。また、三系法において、回復系統に使用する品種が確実にRf-1遺伝子を保有することを調べたり、得られたハイブリッド種子が稔性を回復しているか確認するために、Rf-1遺伝子の存在を調べる必要が生じる場合もある。  
25

従来、植物体中でのR f - 1 遺伝子座の遺伝子型を推定するためには、まず、検定系統と交配を行った交配種子から植物体 (F 1) を形成し、次いでF 1 植物を自殖させてその種子の形成率が一定以上 (例えば7 0 ~ 8 0 % 以上) である個体の出現頻度を調査する必要があった。なお、検定系統とは、維持系統、不稔系統あるいは両系統のセットを指し、目的とする被検定個体の細胞質がB T型か通常細胞質か、あるいは不明かにより適宜選択するものである。不稔系統を検定系統として用いる場合は母親として、維持系統を検定系統として用いる場合は父親として、それぞれ被検定個体に交配する。

しかしながら、これらの方法を行うには、莫大な労力と時間を要する。また、種子稔性は、環境要因の影響を受けやすいので、低温・日照不足などの不良環境で調査すれば、遺伝子型の構成によらず不稔になる場合があり、R f - 1 遺伝子座の遺伝子型推定が正確に行えないという問題を有していた。

このような問題を解消するために、最近では、分子生物学的方法によりR f - 1 遺伝子の存在を判別する方法も提案されている。それは、R f - 1 遺伝子と連鎖する塩基配列 (以下、DNA マーカーという) を検出することにより、R f - 1 遺伝子の存在または不存在を調べる方法である。因みに、R f - 1 遺伝子のDNA配列は未解読であるため、直接R f - 1 遺伝子を検出することは、現在の技術では不可能であった。

例えば、イネのR f - 1 遺伝子座は第1 0染色体上に存在し、そして、制限酵素断片長多型 (R F L P) 解析に使用することができるDNAマーカー (R F L Pマーカー) 座G 2 9 1とG 1 2 7との間であることが報告されている (F u k u t a e t a l . 1 9 9 2 , J p n J . B r e e d . 4 2 ( s u p l . 1 ) 1 6 4 - 1 6 5 ) 。このため、R f - 1 遺伝子と連鎖するDNAマーカー座G 2 9 1およびG 1 2 7の遺伝子型を調査することにより、R f - 1 遺伝子座の遺伝子型を推定することが可能である。

しかしながら、従来の分子生物学的方法にはいくつかの問題が存在する。第一の問題は、従来の方法では、使用するマーカーがR F L Pマーカーであり、これを検出するためにはサザンブロット解析を行う必要があるという点である。サザンブロット解析を行うためには、被検定個体から数マイクログラム単位の精製さ

れたDNAを必要とし、さらに制限酵素処理、電気泳動、プロット、プローブとのハイブリダイゼーション、およびシグナルの検出からなる一連の作業手順を行う必要があるため、多大な労力が必要であるうえに、検定結果を得るまでに1週間程度かかっていた。

- 5 第二の問題は、RFLPマーカー座G291とG127の間の遺伝子地図距離は約30cM（イネDNAでは約9000kbpに相当する）と長いため、二重組換えが起こる可能性が数%程度はあると考えられ、Rf-1遺伝子座の遺伝子型が必ずしも正確に推定できないことである。

- さらに第三の問題は、Rf-1遺伝子の存在をRFLPマーカー座G291およびG127の遺伝子型を調査することにより推定する場合、選抜の結果育成される稔性回復系統には、Rf-1遺伝子と共に、RFLPマーカー座G291とG127の間の遺伝子領域も導入されるという点である。その結果、導入DNA配列は30cM以上のRf-1遺伝子ドナー親由来の染色体領域を有することになり、導入DNA領域中に存在する可能性がある劣悪遺伝子をRf-1遺伝子と  
10 同時に導入してしまう危険性があった。

- このような問題を解決するため、Rf-1遺伝子座と連鎖する優性DNAマーカー（特開平7-222588）および共優性DNAマーカー（特開平9-313187）が開発されている。これらのマーカーは、Rf-1遺伝子座とそれぞれ、 $1.6 \pm 0.7$  cM（イネDNAでは約480kbpに相当）および  
20  $3.7 \pm 1.1$  cM（イネDNAでは約1110kbpに相当）の遺伝的距離で連鎖しており、両座はRf-1遺伝子座を挟む位置関係にある。そのため、優性PCRマーカー座および共優性PCRマーカー座は、これらが両方とも存在することを検出することにより、Rf-1遺伝子の存在を推定することができる。また、共優性PCRマーカーの使用は、Rf-1遺伝子座の遺伝子型がホモかヘテロかも  
25 推定することを可能にする。

しかしながら、これらのPCRマーカーを使用する場合にも、依然としていくつかの問題がある。この共優性マーカーはRf-1遺伝子座と $3.7 \pm 1.1$  cMの遺伝距離を有するため、Rf-1遺伝子座との間での組換え頻度が高いという問題が十分には解決されていない。その結果、共優性マーカー自体については



ホモ型またはヘテロ型まで正確に検出することができるが、共優性マーカー座と R f - 1 遺伝子座との間で組換えが生じる場合に、R f - 1 遺伝子座の遺伝子型の推定、特にホモ型またはヘテロ型までの推定を正確に実施できないという問題がある。一方、優性マーカーを使用して R f - 1 遺伝子座の遺伝子型を推定する場合、優性マーカーでは R f - 1 遺伝子がホモの個体 (R f - 1 / R f - 1) およびヘテロの個体 (R f - 1 / r f - 1) の両方を区別することなく検出してしまふ。そのため、上記共優性マーカーと優性マーカーとを組み合わせを利用して R f - 1 遺伝子座の遺伝子型を推定したとしても、R f - 1 遺伝子に関するホモ型とヘテロ型とを正確に識別することはできない。また、優性マーカーを用いて行う P C R では、P C R 産物が得られなかった場合には、実験操作上の問題に起因する可能性も否定できない。さらに、これらの共優性マーカーと優性マーカーとの間の遺伝的距離が約 5. 3 c M (約 1 5 9 0 k b p) と離れているため、R f - 1 遺伝子ドナー親からの導入染色体領域長を短い長さに限定することができないので、この領域中に含まれる劣悪遺伝子の持ち込みを抑制できないという問題点も有している。

さらに、特開 2 0 0 0 - 1 3 9 4 6 5 には、イネ第 1 0 染色体の R f - 1 遺伝子の近傍に座乗する R F L P マーカーの塩基配列に基づいて開発された、共優性 P C R マーカーが記載されている。しかしながら、それらの P C R マーカーは、依然として R f - 1 遺伝子からの遺伝的距離が約 1 c M より離れているという問題を有している。

#### 発明の開示

本発明は、イネの稔性を回復する方法を提供することを目的とする。本発明の方法は、配列番号 7 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 7 5 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸をイネに導入する、ことを含む。本発明の方法の、好ましい一態様において、配列番号 7 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 7 5 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸は、以下の a) - p) の核酸から選択される：

a) 配列番号 6 9 の塩基 2 1 5 - 2 5 8 7 を含む核酸；

- b) 配列番号 70 の塩基 213-2585 を含む核酸 ;  
c) 配列番号 71 の塩基 218-2590 を含む核酸 ;  
d) 配列番号 72 の塩基 208-2580 を含む核酸 ;  
e) 配列番号 73 の塩基 149-2521 を含む核酸 ;  
5 f) 配列番号 74 の塩基 225-2597 を含む核酸 ;  
g) 配列番号 27 の塩基 43907-46279 を含む核酸 ;  
h) 配列番号 80 の塩基 229-2601 を含む核酸 ;  
i) 配列番号 81 の塩基 175-2547 を含む核酸 ;  
j) 配列番号 82 の塩基 227-2599 を含む核酸 ;  
10 k) 配列番号 83 の塩基 220-2592 を含む核酸 ;  
l) 配列番号 84 の塩基 174-2546 を含む核酸 ;  
m) 配列番号 85 の塩基 90-2462 を含む核酸 ;  
n) 上記 a) -m) のいずれかの核酸と少なくとも 70% 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸 ;  
15 o) 上記 a) -m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン ト な 条 件 下 で ハ イ プ リ ダ イ ズ し、かつ、稔性回復機能を有する核酸 ; 及び  
p) 上記 a) -m) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。  
本発明の方法において、上記配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号  
20 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸は、好ましくは、以下の条件 1) - 12) の少なくとも一つを満たす :
- 1) 配列番号 69 の塩基 1769 に相当する塩基が A である ;  
2) 配列番号 70 の塩基 1767 に相当する塩基が A である ;  
25 3) 配列番号 71 の塩基 1772 に相当する塩基が A である ;  
4) 配列番号 72 の塩基 1762 に相当する塩基が A である ;  
5) 配列番号 73 の塩基 1703 に相当する塩基が A である ;  
6) 配列番号 74 の塩基 1779 に相当する塩基が A である ;  
7) 配列番号 80 の塩基 1783 に相当する塩基が A である ;

- 8) 配列番号 8 1 の塩基 1 7 2 9 に相当する塩基が A である ;
- 9) 配列番号 8 2 の塩基 1 7 8 1 に相当する塩基が A である ;
- 1 0) 配列番号 8 3 の塩基 1 7 7 4 に相当する塩基が A である ;
- 1 1) 配列番号 8 4 の塩基 1 7 2 8 に相当する塩基が A である ; 又は
- 5 1 2) 配列番号 8 5 の塩基 1 6 4 4 に相当する塩基が A である。

本発明はまた、上記配列番号 7 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 7 5 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸を利用して、被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有するか否かを識別する方法を提供することを目的とする。本発明の方法は、一  
10 態様において、好ましくは、配列番号 7 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 7 5 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸が、以下の条件 1) - 1 2) の少なくとも一つを満たす場合に被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有すると判断する :

- 1) 配列番号 6 9 の塩基 1 7 6 9 に相当する塩基が A である ;
- 15 2) 配列番号 7 0 の塩基 1 7 6 7 に相当する塩基が A である ;
- 3) 配列番号 7 1 の塩基 1 7 7 2 に相当する塩基が A である ;
- 4) 配列番号 7 2 の塩基 1 7 6 2 に相当する塩基が A である ;
- 5) 配列番号 7 3 の塩基 1 7 0 3 に相当する塩基が A である ;
- 6) 配列番号 7 4 の塩基 1 7 7 9 に相当する塩基が A である ;
- 20 7) 配列番号 8 0 の塩基 1 7 8 3 に相当する塩基が A である ;
- 8) 配列番号 8 1 の塩基 1 7 2 9 に相当する塩基が A である ;
- 9) 配列番号 8 2 の塩基 1 7 8 1 に相当する塩基が A である ;
- 1 0) 配列番号 8 3 の塩基 1 7 7 4 に相当する塩基が A である ;
- 1 1) 配列番号 8 4 の塩基 1 7 2 8 に相当する塩基が A である ; 又は
- 25 1 2) 配列番号 8 5 の塩基 1 6 4 4 に相当する塩基が A である。

本発明は、さらに、R f - 1 遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法を提供することを目的とする。本発明の抑制方法は、一態様において、配列番号 7 5 のアミノ酸配列、又は配列番号 7 5 のアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸、に対し相補的な塩

基配列から選択される、連続した少なくとも100塩基の長さのアンチセンスを導入する、ことを含む。

本発明はさらにまた、配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸、を提供することを目的とする。本発明は、一態様において、以下のa) - p)

- a) 配列番号69の塩基215 - 2587を含む核酸；
- b) 配列番号70の塩基213 - 2585を含む核酸；
- c) 配列番号71の塩基218 - 2590を含む核酸；
- 10 d) 配列番号72の塩基208 - 2580を含む核酸；
- e) 配列番号73の塩基149 - 2521を含む核酸；
- f) 配列番号74の塩基225 - 2597を含む核酸；
- g) 配列番号27の塩基43907 - 46279を含む核酸；
- h) 配列番号80の塩基229 - 2601を含む核酸；
- 15 i) 配列番号81の塩基175 - 2547を含む核酸；
- j) 配列番号82の塩基227 - 2599を含む核酸；
- k) 配列番号83の塩基220 - 2592を含む核酸；
- l) 配列番号84の塩基174 - 2546を含む核酸；
- m) 配列番号85の塩基90 - 2462を含む核酸；
- 20 n) 上記a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも70%同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；
- o) 上記a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン ト な 条 件 下 で ハイ ブ リ ダ イ ズ し、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び
- p) 上記a) - m) のいずれかの核酸に1ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸
- 25 から選択される核酸を提供する。

#### 図面の簡単な説明

図1は、RFLPマーカー座S12564を起点とする染色体歩行の結果を示す。

図2は、BACクローンAC068923とラムダクローンコンティグとの位置関係を示す。

図3は、Rf-1座極近傍組換え型花粉（いずれも稔性あり）のRf-1座極近傍の染色体構成を、その花粉から生じた10個体（RS1、RS2、RC1-8）のマーカー座の遺伝子型に基づき、明らかにした結果を示したものである。白抜き部分はジャポニカ型領域を、黒部分はインディカ型領域を示す。

図4は、第10染色体上のマーカー座とRf-1座との連鎖分析の結果に基づき、Rf-1座の連鎖地図上での位置を示したものである。地図距離は、1042F1個体の分離データから算出した。

図5は、相補性試験によるRf-1領域の同定のために使用した、10個のゲノムクローン由来の断片を示す。染色体歩行により得られたλクローン（細い線）を用いて、太い直線で示した染色体領域について相補性試験を行った。XS F18は、欠失を含むクローンであることが分かったので、その欠失部分は点線で示した。

図6は、XSG16由来の15.7kb（実施例10）及びXS F18由来の16.2kb断片（実施例8）を用いた相補性試験の結果を示す。XSG16由来の15.7kbでは稔性が回復し、稲穂がたれている。

図7は、Rf-1遺伝子構造の模式図を示す。白棒部分および黒線部分は、それぞれエキソンおよびイントロンを示す。エキソン部分については、塩基対数を示してある。

図8は、相補性試験を行ったIR24ゲノム断片、cDNAライブラリースクリーニングに用いたプローブ及び単離したcDNAから推定したRf-1遺伝子の位置関係の模式図を示す。Rf-1遺伝子の白棒部分および黒線部分は、それぞれ、エキソンおよびイントロンを示す。エキソン部分については、塩基対数を示してある。

#### 発明を実施するための最良の形態

本発明者らは、まず、Rf-1の存在部位を第10染色体上の極めて狭い範囲に特定した。その結果に基づいて、Rf-1遺伝子座の近傍に存在するPCRマーカーを開発し、これらのPCRマーカーが、Rf-1遺伝子座と連鎖すること

を利用して、R f - 1 遺伝子を検出する方法が見出された。具体的には、R f - 1 遺伝子座が、イネ第 10 染色体上に存在する P C R マーカース 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座と C 1 3 6 1 M w o I 座との間に座乗することを利用して、近傍に存在する新規の P C R マーカースの遺伝子型を調査することにより、

5 R f - 1 遺伝子の有無の調査および R f - 1 遺伝子ホモ型個体の選抜を実施する。当該 R f - 1 遺伝子を検出する方法につき、本発明者らは、平成 12 年 8 月 17 日に特願 2000-247204 として特許出願を行っている。当該出願の全内容は参考文献として本明細書に援用される。

I. 特願 2000-247204 に記載の R f - 1 遺伝子座の遺伝子型を推

10 定する方法

特願 2000-247204 は、R f - 1 遺伝子座がイネ第 10 染色体上の R F L P マーカース 1 2 5 6 4 座と C 1 3 6 1 座との間に座乗することを利用して、被検定イネ個体または種子が R f - 1 遺伝子を持つか否かを識別する方法について記載している。

15 マーカース

R f - 1 遺伝子座の近傍に存在する特定の領域に対して設計したプライマー対を用いて P C R を行い、その産物を特定の制限酵素で処理後電気泳動にかけると、ジャポニカ系統とインディカ系統との間で、異なる大きさのバンドが観察されることがある。そのような場合、インディカ系統に特徴的なバンドを R f - 1

20 連鎖バンドとする。本発明者らにより、R f - 1 遺伝子座は、イネ第 10 染色体上に存在する P C R マーカース 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座と C 1 3 6 1 M w o I 座との間に座乗することが明らかにされ、その周辺での P C R マーカースは当業者が適宜開発して使用可能となった。

例えば、下記の群から選択される P C R マーカースの少なくとも 1 個を被検体イ

25 ネのゲノム中に存在するか否か検出することにより、被検定個体がこれらの P C R マーカースと連鎖する R f - 1 遺伝子を持つか否かを識別する：

(1) マーカース 1： 配列番号 1 および配列番号 2 の配列を有する D N A をプライマーとして用いてゲノミック P C R を行い、得られた産物中の、制限酵素

E c o R I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCRマーカーR1877 E c o R I ;

(2) マーカー2 : 配列番号3および配列番号4の配列を有するDNAをプライマーとして用いてゲノミックPCRを行い、得られた産物中の、制限酵素

5 H i n d I I I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCRマーカーG4003 H i n d I I I (配列番号19) ;

(3) マーカー3 : 配列番号5および配列番号6の配列を有するDNAをプライマーとして用いてゲノミックPCRを行い、得られた産物中の、制限酵素

10 M w o I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCRマーカーC1361 M w o I (配列番号20) ;

(4) マーカー4 : 配列番号7および配列番号8の配列を有するDNAをプライマーとして用いてゲノミックPCRを行い、得られた産物中の、制限酵素

15 M w o I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCRマーカーG2155 M w o I (配列番号21) ;

(5) マーカー5 : 配列番号9および配列番号10の配列を有するDNAをプライマーとして用いてゲノミックPCRを行い、得られた産物中の、制限酵

20 素M s p I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCRマーカーG291 M s p I (配列番号22) ;

(6) マーカー6 : 配列番号11および配列番号12の配列を有するDNAをプライマーとして用いてゲノミックPCRを行い、得られた産物中の、制限

25 酵素B s l I 認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCRマーカーR2303 B s l I (配列番号23) ;

(7) マーカー7 : 配列番号13および配列番号14の配列を有するDNAをプライマーとして用いてゲノミックPCRを行い、得られた産物中の、制限

酵素BstUI認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCRマーカーS10019 BstUI（配列番号24）；

- （8）マーカー8： 配列番号15および配列番号16の配列を有するDNAをプライマーとして用いてゲノミックPCRを行い、得られた産物中の、制限酵素KpnI認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCRマーカーS10602 KpnI（配列番号25）；および

- （9）マーカー9： 配列番号17および配列番号18の配列を有するDNAをプライマーとして用いてゲノミックPCRを行い、得られた産物中の、制限酵素Tsp509I認識部位の有無に基づいて、ジャポニカ系統とインディカ系統のイネの間の多型を検出する、PCRマーカーS12564 Tsp509I（配列番号26）。

- なお、上記PCRマーカーは、Rf-1遺伝子座が、イネ第10染色体上の9個のRFLPマーカー領域R1877、G291、R2303、S12564、C1361、S10019、G4003、S10602、およびG2155付近に座乗する可能性が高いと考え（Fukuta et al. 1992, Jpn J. Breed. 42 (supl. 1) 164-165によるRFLP連鎖解析結果、およびHarushima et al. 1998, Genetics 148 479-494によるイネRFLP連鎖地図を参照）、これらのRFLPマーカーを、後記参考例1に記載するようにして、共優性PCRマーカーであるCAPSマーカーまたはdCAPSマーカー（Michaels and Amasino 1998, The Plant Journal 14 (3) 381-385; Neff et al. 1998, The plant Journal 14 (3) 387-392）に変換した。この変換により、上記PCRマーカーが得られた。

これらのPCRマーカーのうち、PCRマーカーR1877 EcoRI、G291 MspI（配列番号22）、R2303 BslI（配列番号23）およびS12564 Tsp509I（配列番号26）からなる群と、P



CRマーカーC1361 MwoI (配列番号20)、S10019 BstUI (配列番号24)、G4003 HindIII (配列番号19)、S10602 KpnI (配列番号25)、およびG2155 MwoI (配列番号21) からなる群とは、第10染色体上でRf-1遺伝子座を挟んで反対側に存在する。

従って、一態様において、(a) PCRマーカーR1877 EcoRI、G291 MspI、R2303 BslIおよびS12564 Tsp509I からなる群から選択される少なくとも1個のPCRマーカー、並びに (b) PCRマーカーC1361 MwoI、S10019 BstUI、G4003 HindIII、S10602 KpnI、およびG2155 MwoI からなる群から選択される少なくとも1個のPCRマーカーによりRf-1連鎖バンドを検出することにより、Rf-1遺伝子の存在を検出する。その際、上記 (a) の群からRf-1遺伝子に最も近いマーカーとして、少なくともPCRマーカーS12564 Tsp509Iおよび上記 (b) の群から少なくともC1361 MwoIを使用することが好ましい。被検定イネのゲノム中に、 (a) のPCRマーカーによるRf-1連鎖バンドと (b) のPCRマーカーによるRf-1連鎖バンドの両方が検出されれば、そのイネがRf-1遺伝子を有する可能性を高い確率で推定することができる。

別の態様においては、上記 (a) の群から少なくとも二つのPCRマーカー、及び (b) の群から少なくとも二つのPCRマーカーによりRf-1連鎖バンドを検出する。例えば、(a) 及び (b) の群のマーカーのうち、図1に示す遺伝子地図において、Rf-1遺伝子により近いマーカーによりRf-1連鎖バンドが検出され、それよりRf-1遺伝子から遠いマーカーによりRf-1連鎖バンドが検出されないイネ個体を選抜することにより、Rf-1遺伝子を有するが、不要な遺伝子領域をできるだけ含まないイネを選抜することが可能である。この場合も、(a) 及び (b) の各群のマーカーのうち少なくとも一つは、それぞれPCRマーカーS12564 Tsp509IおよびC1361 MwoIであることが好ましい。すなわち、2種のPCRマーカー座S12564 Tsp509IとC1361 MwoIは、マーカー座間距離にして0.3cM離

れている。この性質を利用することにより、R f - 1 遺伝子ドナー親から導入する染色体領域を 1 c M 程度に狭めることができる。その結果、ドナー親の R f - 1 遺伝子近傍に存在する可能性がある劣悪遺伝子が回復系統に導入される可能性を最小限に抑えることができる。

## 5 R f - 1 遺伝子の検出

被検定イネゲノム中の R f - 1 遺伝子を検出するには、上記配列番号 1 - 1 8 のプライマーを用いて、被検定イネゲノムから上記 P C R マーカークのいずれかを P C R で増幅させ、ポリメラーゼ連鎖反応-制限酵素断片長多型 (P C R - R F L P) 法で検出する。P C R - R F L P 法は、比較する品種系統間において、P C R により増幅した D N A 断片配列中の制限酵素認識部位に多型が存在する場合  
10 C R により増幅した D N A 断片配列中の制限酵素認識部位に多型が存在する場合に、その制限酵素による切断パターンからいずれの型であるかを簡便に決定する方法である (D. E. H a r r y, e t a l., T h e o r A p p l G e n e t (1998) 97:327-336)。

制限酵素による切断パターンとしては、可視化されたゲル上に、使用したプライ  
15 イマー対に応じて、以下の表 1 のようなバンドの存在の有無が確認される。

表 1

-----	
	検出されるバンドの おおよそのサイズ (b p)
-----	
20	プライマー対 1 によるマーカー 1 の検出 (R1877 EcoRI)
	被検定イネゲノムが Rf-1 遺伝子をホモに有する場合: 1500 及び 1700
	被検定イネゲノムが Rf-1 遺伝子をヘテロに有する場合: 1500, 1700 及び 3200
	被検定イネゲノムが Rf-1 遺伝子を持たない場合: 3200
-----	
25	プライマー対 2 によるマーカー 2 の検出 (G4003 HindIII)
	被検定イネゲノムが Rf-1 遺伝子をホモに有する場合: 362
	被検定イネゲノムが Rf-1 遺伝子をヘテロに有する場合: 95, 267 及び 362
	被検定イネゲノムが Rf-1 遺伝子を持たない場合: 95 及び 267

-----  
プライマー対 3 によるマーカー 3 の検出 (C1361 MwoI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 50及び107

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 25、50、79及び107

5 被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 25、50及び79  
-----

プライマー対 4 によるマーカー 4 の検出 (G2155 MwoI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 25、27及び78

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 25、27、78及び105

10 被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 25及び105  
-----

プライマー対 5 によるマーカー 5 の検出 (G291 MspI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 25、49及び55

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 25、49、55及び104

15 被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 25及び104  
-----

プライマー対 6 によるマーカー 6 の検出 (R2303 BslI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 238、655及び679

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 238、655、679

20 及び1334  
-----

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 238及び1334  
-----

プライマー対 7 によるマーカー 7 の検出 (S10019 BstUI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 130、218及び244

25 被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 130、218、244  
及び462  
-----

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 130及び462  
-----

プライマー対 8 によるマーカー 8 の検出 (S10602 KpnI)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 724

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 117、607及び724

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 117及び607

5 プライマー対9によるマーカー9の検出 (S12564 Tsp509I)

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をホモに有する場合： 41及び117

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子をヘテロに有する場合： 26、41、91及び117

被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を持たない場合： 26、41及び91

10

I I. R f - 1 遺伝子座領域の特定

15 以上、特願2000-247204において、R f - 1 遺伝子座がDNAマーカー座S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 IとC 1 3 6 1 M w o I座との間に座乗することが本発明者らにより明らかにされ、これを利用したR F L P - P C R用マーカーが記載されている。R f - 1 遺伝子を持たない通常のジャポニカ品種に、戻し交雑によりR f - 1 遺伝子を導入することにより回復系統が育成される。その過程で、特願2000-247204に記載のR f - 1 遺伝子座の識別方法を用いると、回復系統の育成が効率的（必要期間は2～3年）になるだけでなく、導入断片長を制御することができる。

20 しかしながら、交雑による導入では、R f - 1 極近傍領域をも同時に導入することは避けられない。特願2000-247204において、R f - 1 遺伝子座がDNAマーカー座S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 IとC 1 3 6 1 M w o I座との間に座乗することが解明されたが、両遺伝子座は約0.3 c M、即ち約90 k b pである。仮にR f - 1 極近傍に劣悪遺伝子が存在すれば、R f - 1 遺伝子と  
25 もにその劣悪遺伝子も導入される可能性が否定できない。

そこで、本発明者らはDNAマーカー座S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 IとC 1 3 6 1 M w o I座の間の領域について、R f - 1 遺伝子座とDNAマーカー座S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 Iとが密接連鎖することを手がかりに、染色体歩行および遺伝学的解析を行うことにより、R f - 1 遺伝子と連鎖する領域を調べ

た。その結果、R f - 1 遺伝子を含む R f - 1 遺伝子座領域を約 7 6 k b まで特定し、そして当該領域の全塩基配列を決定することに成功した。本発明により、B T 型雄性不稔細胞質に対する稔性回復遺伝子の機能を遺伝子工学的に導入することが可能となった。

5      具体的には、特願 2 0 0 0 - 2 4 7 2 0 4 では、M S コシヒカリに M S - F R コシヒカリ ( R f - 1 座ヘテロ ) の花粉をかけて作成した集団 1 0 4 2 個体を用いて連鎖分析を行い、R f - 1 座と S 1 2 5 6 4   T s p 5 0 9 I 座との間での組換え個体を 1 個体、R f - 1 座と C 1 3 6 1   M w o I 座との間での組換え個体を 2 個体見出した ( 本明細書中の参考例 1 - 2 ) 。本発明では、上記集団をさら  
10      ちに 4 1 0 3 個体追加し、合計 5 1 4 5 個体として解析を行った。その結果、新たに、R f - 1 座と S 1 2 5 6 4   T s p 5 0 9 I 座との間での組換え個体を 1 個体、R f - 1 座と C 1 3 6 1   M w o I 座との間での組換え個体を 6 個体見出し、それぞれの組換え個体の合計を 2 個体および 8 個体とした。これら 1 0 個体を R f - 1 座極近傍組換え個体として、本発明の高精度分離分析に供試すること  
15      とした ( 実施例 1 ) 。

    R f - 1 座と S 1 2 5 6 4   T s p 5 0 9 I 座との間での組換え個体が 2 個体に対し、C 1 3 6 1   M w o I 座との間での組換え個体が 8 個体という上記の組換え個体出現頻度は、S 1 2 5 6 4   T s p 5 0 9 I 座と C 1 3 6 1   M w o I 座とを比較すると、S 1 2 5 6 4   T s p 5 0 9 I 座のほうが遺伝学的に R f -  
20      1 座に近いことを意味する。遺伝的距離 ( 組換え価 c M が単位 ) と物理的距離 ( 塩基対数 b p が単位 ) とは必ずしも比例しないが、通常は遺伝的距離が短ければ物理的距離も短いと期待できる。

    そこで、S 1 2 5 6 4   T s p 5 0 9 I 座を起点に染色体歩行を行うことにより、R f - 1 座を単離することとした ( 実施例 2 ) 。染色体歩行には、インディ  
25      カ品種 I R 2 4 およびジャポニカ品種あそみのりのゲノム DNA を用いて λ   D A S H   I I ベクターにより作成したゲノミックライブラリーを供試した。I R 2 4 は R f - 1 保有品種、あそみのりは R f - 1 非保有品種である。染色体歩行を進めた結果、I R 2 4 のゲノミッククローンにより約 7 6 k b の染色体領域をカバーするコンティグ ( 複数のクローンを重複部分で重ね合わせて染色上での順

に整列化したもの)を作成することができ、その全塩基配列(76363bp)を決定した。

次いで、得られた塩基配列情報等を利用することにより、新たに12個のマーカーを開発し、既述のRf-1座極近傍組換え個体10個体を用いて、高精度分離分析を行った(実施例3)。その結果、上記の約76kbの染色体領域に含まれる65kbの配列がRf-1遺伝子の機能の有無を決定する配列を包含することが示された。この領域は、8個のゲノミッククローンから構成されるコンティグによりカバーされている。各クローンの長さは、約12~22kbであり少なくとも4.7kbの重複部を持つ。一方、イネの遺伝子の長さについては、短いものから長いものまでであることが知られているが、大部分の遺伝子は数kb以内であると考えられる。そのため、これら8個のゲノミッククローンのうち、少なくともひとつは完全長のRf-1遺伝子を包含すると予測される。

本発明者らはさらに、上記76kbの染色体領域のうち、Rf-1遺伝子領域をさらに絞り込むと共に、稔性回復能の存在を直接的に証明するために、相補性試験を行った。

具体的には、雄性不稔系統であるMSコシヒカリの未熟種子に、上記76kb領域内の10個の部分断片(各10~21kb)を、別々に遺伝子工学的に導入した(図5)。使用された10個の部分断片のうち、8個は先に染色体歩行で得られた8個のゲノミッククローン(図1、実施例3に記載のXSE1、XSE7、XSF4、XSF20、XSG22、XSG16、XSG8及びXSH18)に由来するものである。これらに加えて、さらに2個のクローンXSF18およびXSX1に由来する断片についても相補性試験を行った。XSF18はXSF20と5'末端及び3'末端(各々、配列番号27の塩基20328及び41921)が同一だが、途中の塩基33947-38591を欠いている。これは、最初にクローンXSF18が単離されたが、単離後の増殖の過程で上記欠失を生じたことが判明したため、再度増殖をやり直すことにより、完全型のクローンを単離し、XSF20と命名したことに因る(実施例8)。また、XSX1は、クローンXSG8とXSH18の重複部分がやや小さいため(約7kb)、

制限酵素処理およびライゲーションにより両クローンから、重複部分を十分に含むようなクローンを新たに作成したものである（実施例 13）。

R f - 1 は優性遺伝子であるので、導入した断片が R f - 1 遺伝子を完全に包含している場合には、形質転換植物当代において稔性が回復する。相補性試験において、各断片について形質転換植物の種子稔性調査を行い、λファージクローン X S G 1 6 に由来する 1 5 . 6 k b 断片（配列番号 2 7 の塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3 を含む）を導入した形質転換体において、種子稔性が回復していることが見出された（実施例 10）。他の断片については、形質転換植物はすべて不稔であった。これらの結果から、上記 1 5 . 6 k b 断片が R f - 1 遺伝子を完全に包含していることが示された。さらに、本発明により、R f - 1 遺伝子を遺伝子工学的に導入する方法が提供され、その有効性が実証された。

本発明者は、λファージクローン X S G 1 6 のどの部分が R f - 1 遺伝子を含むかをさらに特定するために、前述の 1 5 . 6 k b 断片（配列番号 2 7 の塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3 を含む）よりも短い断片について相補性試験による種子稔性調査を行った。その結果、X S G 1 6 に由来する 1 1 . 4 k b 断片（配列番号 2 7 の塩基 4 2 3 5 7 - 5 3 7 4 3 を含む）を導入した形質転換体において、種子稔性が回復していることが見出された（実施例 10（2））。さらに、より短い 6 . 8 k b 断片（配列番号 2 7 の塩基 4 2 1 3 2 - 4 8 8 8 3 を含む）を導入した形質転換体においても、種子稔性が回復した（実施例 10（3））。これらの結果から、上記 6 . 8 k b 断片が R f - 1 遺伝子を包含していることが示された。

本発明者らは、さらに研究をすすめ、稔性回復機能を有する核酸を特定し、それによってコードされるアミノ酸配列も明らかとなった。具体的には、実施例 1 4 - 1 5 に記載したように、まず、配列番号 2 7 の 4 3 7 3 3 - 4 4 0 3 8 及び 4 8 3 0 6 - 5 0 2 2 6 に相当する DNA 断片を P C R を用いて作成した。これらの 2 種の断片をプローブ（プローブ P 及び Q）として、コシヒカリに R f - 1 を導入した系統より作成した c D N A をライブラリーをスクリーニングした。その結果、6 個のクローンの末端塩基配列が X S G 1 6 の配列と一致し、R f - 1

遺伝子を含むクローンとして単離され、塩基配列が解析された（配列番号 69-74）。

配列番号 69-74 のいずれの配列も、配列番号 75 のアミノ酸配列 1-791 を持つタンパク質をコードする。具体的には、各々配列番号 69 の塩基 215-2587、配列番号 70 の塩基 213-2585、配列番号 71 の塩基 218-2590、配列番号 72 の塩基 208-2580、配列番号 73 の塩基 149-2521 及び配列番号 74 の塩基 225-2597 が、いずれも配列番号 75 のアミノ酸配列 1-791 をコードする。なお上記塩基配列は、配列番号 27 の塩基 43907-46279 に対応する。

配列番号 75 のアミノ酸配列を、トウモロコシの稔性回復遺伝子（Rf2）の推定アミノ酸配列（Cui et al., 1996）と比較したところ、N末端の 7 アミノ酸残基（Met-Ala-Arg-Arg-Ala-Ala-Ser）が一致した。これら 7 アミノ酸残基はミトコンドリアへの標的化シグナルの一部と考えられている（Liu et al., 2001）。これらのことから、今回単離した cDNA は Rf-1 遺伝子のコーディング領域を完全に包含すると考えられる。イネ Rf-1 とトウモロコシ Rf2 とのアミノ酸レベルでの相同性は、前述の領域を除いては見られない。

また、今回単離した cDNA の配列を IR24 のゲノム配列（配列番号 27）と比較し、Rf-1 遺伝子のエキソンとイントロンの構造を明らかにした（図 7）。その結果、植物体内において、スプライシング様式およびポリ A 付加位置を異にする種々の転写産物が混在していることが示された。Rf-1 遺伝子のコード領域内には、イントロンは介在しない。

本発明者は、実施例 10（3）の相補性実験で種子稔性を回復した 6.8 kb 断片について、さらに相補性実験を行った。具体的には、実施例 16 において、前記 6.8 kb 断片中の Rf-1 遺伝子のプロモーター領域と予想翻訳領域とを包含する 4.2 kb 断片（配列番号 27 の塩基 42132-46318）を用いて、相補性実験を行ったところ、種子稔性が回復した。

さらに、実施例 17 において稔性回復機能を有する核酸を含むクローンを新たに 6 個取得した。具体的には、まず、配列番号 27 の塩基 45522-4554



5 及び4 5 9 5 5 - 4 5 9 3 2に相当する2種類のプライマーを用いて、IR 2 4 のゲノミッククローンXSG 1 6をテンプレートにPCRを行い、DNA断片を得た。当該DNA断片をプローブRとして、前記プローブPとともにブランクハイブリダイゼーションを行なった。プローブPおよびプローブRのどちらでも陽性を示すブランクから、新たに6個のクローンを得た（# 7 - # 1 2）。その結果を配列番号8 0 - 8 5に示す。

10 配列番号8 0 - 8 5のいずれの配列も、配列番号7 5のアミノ酸配列1 - 7 9 1を持つタンパク質をコードすると推定される。具体的には、各々配列番号8 0の塩基2 2 9 - 2 6 0 1、配列番号8 1の塩基1 7 5 - 2 5 4 7、配列番号8 2の塩基2 2 7 - 2 5 9 9、配列番号8 3の塩基2 2 0 - 2 5 9 2、配列番号8 4の塩基1 7 4 - 2 5 4 6及び配列番号8 5の塩基9 0 - 2 4 6 2が、いずれも配列番号7 5のアミノ酸配列1 - 7 9 1をコードする。なお上記塩基配列は、配列番号2 7の塩基4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9に対応する。

15 今回単離したcDNAの配列をIR 2 4のゲノム配列（特願2 0 0 1 - 2 8 5 2 4 7配列番号2 7）と比較することにより、エキソンとイントロンの構造が明らかになった（図8）。今回単離したcDNAのなかには、予想翻訳領域とは関係のないエキソンを含まず、単一エキソンからなるものも3個存在した（# 1 0 - # 1 2、配列番号8 3 - 8 5）。

#### III. Rf-1遺伝子座を含む核酸

20 本発明は、稔性回復遺伝子（Rf-1）座を含む核酸を提供する。

25 本発明の稔性回復遺伝子（Rf-1）座を含む核酸は、配列番号2 7の塩基配列を有する核酸、又は配列番号2 7の塩基配列と少なくとも7 0 %同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸を含む。さらに、実施例1 0に記載したように、配列番号2 7の塩基配列のうち、特に塩基3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3にRf-1遺伝子が完全に含まれていると確認された。Rf-1遺伝子を含む領域はさらに、好ましくは、配列番号2 7の塩基3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3、より好ましくは、塩基4 2 3 5 7 - 5 3 7 4 3、さらに好ましくは、塩基4 2 1 3 2 - 4 8 8 3、さらにより好ましくは塩基4 2 1 3 2 - 4 6 3 1 8と特定された。

本発明者らはさらに、研究を進め、R f - 1 遺伝子を含む核酸として以下の領域を特定した。

- a) 配列番号 6 9 の塩基 2 1 5 - 2 5 8 7、
  - b) 配列番号 7 0 の塩基 2 1 3 - 2 5 8 5、
  - 5 c) 配列番号 7 1 の塩基 2 1 8 - 2 5 9 0、
  - d) 配列番号 7 2 の塩基 2 0 8 - 2 5 8 0、
  - e) 配列番号 7 3 の塩基 1 4 9 - 2 5 2 1、
  - f) 配列番号 7 4 の塩基 2 2 5 - 2 5 9 7、
  - h) 配列番号 8 0 の塩基 2 2 9 - 2 6 0 1、
  - 10 i) 配列番号 8 1 の塩基 1 7 5 - 2 5 4 7、
  - j) 配列番号 8 2 の塩基 2 2 7 - 2 5 9 9、
  - k) 配列番号 8 3 の塩基 2 2 0 - 2 5 9 2、
  - l) 配列番号 8 4 の塩基 1 7 4 - 2 5 4 6 及び
  - m) 配列番号 8 5 の塩基 9 0 - 2 4 6 2。
- 15 上記塩基配列は、g) 配列番号 2 7 の塩基 4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9 に対応し、そして、いずれも配列番号 7 5 のアミノ酸配列 1 - 7 9 1 をコードする。

- 以下、本明細書中、文脈により「配列番号 2 7 の塩基配列」という用語は、配列番号 2 7 全体、あるいは、その一部であって稔性回復機能に関与する部分、特に、塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3 を示す。より好ましくは、塩基 4 2 3 5 7 - 5
- 20 3 7 4 3、さらに好ましくは、塩基 4 2 1 3 2 - 4 8 8 8 3、さらにより好ましくは塩基 4 2 1 3 2 - 4 6 3 1 8 を示す。そして、特に好ましくは、g) 配列番号 2 7 の塩基 4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9、あるいは、これに対応する、a) 配列番号 6 9 の塩基 2 1 5 - 2 5 8 7、b) 配列番号 7 0 の塩基 2 1 3 - 2 5 8 5、
- c) 配列番号 7 1 の塩基 2 1 8 - 2 5 9 0、d) 配列番号 7 2 の塩基 2 0 8 - 2
- 25 5 8 0、e) 配列番号 7 3 の塩基 1 4 9 - 2 5 2 1、f) 配列番号 7 4 の塩基 2 2 5 - 2 5 9 7、h) 配列番号 8 0 の塩基 2 2 9 - 2 6 0 1、i) 配列番号 8 1 の塩基 1 7 5 - 2 5 4 7、j) 配列番号 8 2 の塩基 2 2 7 - 2 5 9 9、k) 配列番号 8 3 の塩基 2 2 0 - 2 5 9 2、l) 配列番号 8 4 の塩基 1 7 4 - 2 5 4 6 又はm) 配列番号 8 5 の塩基 9 0 - 2 4 6 2 のいずれかを示す。

後述する実施例では、稔性回復遺伝子（R f - 1）を含む核酸として、R f - 1 遺伝子を含むインディカ米の I R 2 4 のゲノムライブラリーより核酸が単離され、配列番号 2 7 の塩基配列が決定された。しかしながら、本発明の、稔性回復遺伝子（R f - 1）を含む核酸の由来は、R f - 1 遺伝子を有するインディカ型品種由来のものであれば特に限定されない。R f - 1 遺伝子を有するインディカ型品種は、特に限定されず、例えば、I R 2 4、I R 8、I R 3 6、I R 6 4、Chinsurah、Boro I I が含まれる。R f - 1 遺伝子を有しないジャポニカ型品種としては、例えば、限定されるわけではないが、あそみのり、コシヒカリ、きらら 3 9 7、アキヒカリ、あきたこまち、ササニシキ、キヌヒカリ、日本晴、初星、黄金晴、ヒノヒカリ、ミネアサヒ、あいちのかおり、ハツシモ、アケボノ、フジヒカリ、峰の雪もち、ココノエモチ、ふくひびき、どんとこい、五百万石、ハナエチゼン、トドロキワセ、はえぬき、どまんなか、ヤマヒカリ等が知られている。「インディカ型品種」も「ジャポニカ型品種」も当業者に周知であり、当業者はどのようなイネ品種が本発明の対象となり得るか容易に判断できる。

本発明の核酸は、一本鎖および二本鎖型両方の DNA と共に、その RNA 相補体も含む。DNA には、例えば、ゲノム DNA（その対応する c DNA も含む）、化学的に合成された DNA、PCR により増幅された DNA、およびそれらの組み合わせが含まれる。

本発明の R f - 1 遺伝子を含む核酸は、好ましくは配列番号 2 7 の塩基配列を有する。1 つ以上のコドンが同一のアミノ酸をコードする場合があります、遺伝暗号の縮重と呼ばれている。このため、配列番号 2 7 と完全には一致していない DNA 配列が、配列番号 2 7 と全く同一のアミノ酸配列を有するタンパク質をコードすることがあり得る。こうした変異体 DNA 配列は、サイレント（silent）突然変異（例えば、PCR 増幅中に発生する）から生じててもよいし、または天然配列の意図的な突然変異誘発の産物であってもよい。

本発明の R f - 1 遺伝子は、好ましくは配列番号 7 5 に記載のアミノ酸配列をコードする。しかしながら、これに限定されることなく、1 またはそれ以上のアミノ酸配列が欠失、付加または置換しているアミノ酸配列を有していてもよい。

、稔性回復機能を有する限り、全ての相同タンパク質を含むことが意図される。

「アミノ酸変異」は1から複数個、好ましくは、1ないし20個、より好ましくは1ないし10個、最も好ましくは1ないし5個である。Rf-1遺伝子にコードされるアミノ酸配列は、配列番号75に記載のアミノ酸配列と、少なくとも約  
5 70%、好ましくは約80%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上、最も好ましくは98%以上の同一性を有する。

アミノ酸の同一性パーセントは、視覚的検査及び数学的計算により決定してもよい。あるいは、2つのタンパク質配列の同一性パーセントは、Needleman, S. B. 及び Wunsch, C. D. (J. Mol. Biol., 48:  
10 443-453, 1970) のアルゴリズムに基づき、そしてウィスコンシン大学遺伝学コンピューターグループ (UWGCG) より入手可能なGAPコンピュータープログラムを用い配列情報を比較することにより、決定してもよい。GAPプログラムの好ましいデフォルトパラメーターには: (1) Henikoff, S 及び Henikoff, J. G. (Proc. Natl. Acad. Sci.  
15 i. USA, 89: 10915-10919, 1992) に記載されるような、スコアリング・マトリックス、blosum62; (2) 12のギャップ加重; (3) 4のギャップ長加重; 及び (4) 末端ギャップに対するペナルティなし、が含まれる。

当業者に用いられる、配列比較の他のプログラムもまた、用いてもよい。同一  
20 性のパーセントは、例えば Altschul ら (Nucl. Acids. Res. 25., p. 3389-3402, 1997) に記載されているBLASTプログラムを用いて配列情報と比較し決定することが可能である。当該プログラムは、インターネット上でNational Center for Biotechnology Information (NCBI)、あるいはDNA  
25 Data Bank of Japan (DDBJ) のウェブサイトから利用することが可能である。BLASTプログラムによる相同性検索の各種条件 (パラメーター) は同サイトに詳しく記載されており、一部の設定を適宜変更することが可能であるが、検索は通常デフォルト値を用いて行う。

同一の機能を有するタンパク質であっても、由来する品種の相違によって、そのアミノ酸配列に相違が存在しうることが当業者にとって周知の事実である。本発明の R f - 1 遺伝子は、稔性回復機能を有する限り、配列番号 27 の塩基配列のこのような相同体、変異体も含みうる。「稔性回復機能を有する」とは、当該 DNA 断片が導入された場合に、イネ個体又は種子に稔性を付与することを意味する。稔性回復は、R f - 1 遺伝子よりタンパク質が発現されることに因ってもよく、あるいは R f - 1 遺伝子の核酸（DNA 又は RNA）自体が稔性の付与に何らかの機能をしていてもよい。

限定されるわけではないが、R f - 1 遺伝子の相同体、変異体が稔性回復機能を有するか否かは、例えば、以下のように調べることが可能である。MS コシヒカリ（不稔系統）にコシヒカリの花粉をかけることにより得た未熟種子を供試して、Hiei et al (Plant Journal (1994), 6 (2), p. 272-282) の方法に従い、被検定核酸断片を導入する。得られた形質転換体を通常の条件で栽培すると、被検定核酸断片が稔性回復機能を有する場合にのみ、種子が稔る。

R f - 1 遺伝子を有しないジャポニカ型のあそみのりの対応する領域に由来する核酸は、配列番号 28 に示した塩基配列を有する。配列番号 28 と配列番号 27 の対応する部分は、全体として約 98% の同一性を有する。よって、本発明の稔性回復遺伝子（R f - 1）座を含む核酸は、配列番号 27 と少なくとも約 70%、好ましくは約 80% 以上、より好ましくは 90% 以上、さらに好ましくは 95% 以上、最も好ましくは 98% 以上の同一性を有する。「配列番号 27」は、特に好ましくは、g) 配列番号 27 の塩基 43907-46279、あるいは、これに対応する、a) 配列番号 69 の塩基 215-2587、b) 配列番号 70 の塩基 213-2585、c) 配列番号 71 の塩基 218-2590、d) 配列番号 72 の塩基 208-2580、e) 配列番号 73 の塩基 149-2521、f) 配列番号 74 の塩基 225-2597、h) 配列番号 80 の塩基 229-2601、i) 配列番号 81 の塩基 175-2547、j) 配列番号 82 の塩基 227-2599、k) 配列番号 83 の塩基 220-2592、l) 配列番号

84の塩基174-2546又はm)配列番号85の塩基90-2462のいずれかを意図する。

核酸の同一性パーセントは、視覚的検査および数学的計算により決定してもよい。あるいは、2つの核酸配列の同一性パーセントは、Devereuxら、

5 Nucl. Acids Res., 12:387(1984)に記載され、  
そしてウィスコンシン大学遺伝学コンピューターグループ(UWGCG)より入手可能なGAPコンピュータープログラム、バージョン6.0を用い配列情報を比較することにより、決定してもよい。GAPプログラムの好ましいデフォルト  
10 パラメーターには：(1)ヌクレオチドに関する単一(unary)比較マトリックス(同一に対し1および非同一次元に対し0の値を含む)、およびSchwartzおよびDayhoff監修、Atlas of Protein Sequence and Structure, National Biomedical Research Foundation, pp. 353-358(1979)に記載されるような、GribskovおよびBurgess, Nu  
15 cl. Acids Res. 14:6745(1986)の加重比較マトリックス；(2)各ギャップに対する3.0のペナルティおよび各ギャップ中の各記号に対しさらに0.10のペナルティ；および(3)末端ギャップに対するペナルティなし、が含まれる。当業者に用いられる、配列比較の他のプログラムもまた、用いてもよい。

20 本発明の核酸はまた、配列番号27の塩基配列に中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズすることが可能であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸、並びに、配列番号27の塩基配列に高度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズすることが可能であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸を含む。

25 本明細書において使用されるように、中程度にストリンジェントな条件は、例えば、DNAの長さに基づき、一般の技術を有する当業者により、容易に決定することが可能である。基本的な条件は、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, Vol. 1, pp. 1.101-104, Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1989)に示されている。

例えば、ニトロセルロースフィルターに関し、5 X S S C、0. 5 % S D S、  
1. 0 m M E D T A (p H 8. 0) の前洗浄溶液、約 4 0 ° C ないし 6 0 ° C で  
の、1 X S S C ないし 6 X S S C (または約 4 2 ° C での約 5 0 % ホルムアミド中  
の、例えばスターク溶液 (S t a r k' s s o l u t i o n) などの他の同様の  
5 ハイブリダイゼーション溶液) のハイブリダイゼーション条件、および約 6  
0 ° C、0. 5 X S S C、0. 1 % S D S の洗浄条件の使用が含まれる。また、  
例えば、ハイブリダイゼーション溶液が約 5 0 % ホルムアミドを含む場合、上記  
ハイブリダイゼーション温度は約 1 5 ° C ないし 2 0 ° C 低めとなる。非常にストリ  
ンジェントな条件もまた、例えば DNA の長さに基づき、当業者により、容易に  
10 決定することが可能である。一般に、非常にストリンジェントな条件は、上記中  
程度にストリンジェントな条件よりも、より高い温度及び／又はより低い塩濃度  
でのハイブリダイゼーション、及び／又は洗浄条件を含む、例えば、約 6 0 ° C ない  
し 6 5 ° C での 0. 1 X S S C ないし 0. 2 X S S C のハイブリダイゼーション  
条件、および／又は約 6 5 ° C ないし 6 8 ° C、0. 2 X S S C、0. 1 % S D S  
15 の洗浄条件を含む。当業者は温度および洗浄溶液塩濃度は、プローブの長さなどの  
の要因にしたがい、必要に応じ調整してもよいことを認識するであろう。

「配列番号 2 7」は、特に好ましくは、g) 配列番号 2 7 の塩基 4 3 9 0 7 -  
4 6 2 7 9、あるいは、これに対応する、a) 配列番号 6 9 の塩基 2 1 5 - 2 5  
8 7、b) 配列番号 7 0 の塩基 2 1 3 - 2 5 8 5、c) 配列番号 7 1 の塩基 2 1  
20 8 - 2 5 9 0、d) 配列番号 7 2 の塩基 2 0 8 - 2 5 8 0、e) 配列番号 7 3 の  
塩基 1 4 9 - 2 5 2 1、f) 配列番号 7 4 の塩基 2 2 5 - 2 5 9 7、h) 配列番  
号 8 0 の塩基 2 2 9 - 2 6 0 1、i) 配列番号 8 1 の塩基 1 7 5 - 2 5 4 7、  
j) 配列番号 8 2 の塩基 2 2 7 - 2 5 9 9、k) 配列番号 8 3 の塩基 2 2 0 - 2  
5 9 2、l) 配列番号 8 4 の塩基 1 7 4 - 2 5 4 6 又は m) 配列番号 8 5 の塩基  
25 9 0 - 2 4 6 2 のいずれかを意図する。

同様に、本発明の DNA には、1 つまたは複数の塩基の欠失、挿入または置換  
のため、配列番号 2 7 の塩基配列とは異なるが稔性回復機能を有する核酸を含  
む。稔性回復機能を有する限り、欠失、挿入または置換される塩基の数は特に制  
限されないが、好ましくは 1 個ないし数千個、より好ましくは 1 個ないし千個、

さらにこのましくは1個ないし500個、さらにより好ましくは1個ないし200個、最も好ましくは1個ないし100個である。

本明細書の記載に基づいてRf-1遺伝子がより特定され、当業者がRf-1遺伝子以外の部分またはRf-1遺伝子内のイントロン部分などの核酸を除いて使用することが可能である。また、既定のアミノ酸（特に配列番号75に記載のアミノ酸配列）を、例えば同様の物理化学的特性を有する残基により置換してもよい。こうした保存的置換の例には、1つの脂肪族残基を互いに、例えばIle、Val、Leu、またはAlaを互いに置換するもの；LysおよびArg、GluおよびAsp、またはGlnおよびAsn間といった、1つの極性残基から別のものへの置換；あるいは芳香族残基の別のものでの置換、例えばPhe、Trp、またはTyrを互いに置換するものが含まれる。他の保存的置換、例えば、同様の疎水性特性を有する領域全体の置換が、周知である。当業者は、周知の遺伝子工学的手法により、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1989)等に記載の、例えば部位特異的突然変異誘発法を使用して、所望の欠失、挿入または置換を施すことが可能である。

本発明者らは、Rf-1遺伝子を有するインディカ型のIR-24（塩基配列27）と、有しないジャポニカ型のあそみのり（塩基配列28）およびGenBankに登録されている日本晴BACクローン（アクセッション番号AC068923）とを比較した。その結果、Rf-1遺伝子を含むインディカ型のRf-1領域は少なくとも、以下の1塩基多型（SNP）を有することを見出した。

- 1) 配列番号27の塩基1239に相当する塩基がAである；
- 2) 配列番号27の塩基6227に相当する塩基がAである；
- 25 3) 配列番号27の塩基20680に相当する塩基がGである；
- 4) 配列番号27の塩基45461に相当する塩基がAである；
- 5) 配列番号27の塩基49609に相当する塩基がAである；
- 6) 配列番号27の塩基56368に相当する塩基がTである；
- 7) 配列番号27の塩基57629に相当する塩基がCである；及び



8) 配列番号 27 の塩基 66267 に相当する塩基が G である。

よって、本発明の Rf-1 領域を含む核酸は、好ましくは上記条件 1) - 8) の 1 つないし全てを満たす。

5      なお、後述の実施例 3 において、Rf-1 遺伝子極近傍組換え個体 (RS1 - RS2、RC1 - RC8) についてその Rf-1 領域の染色体構成を調べた。その結果、配列番号 27 の塩基 1239 ないし 66267 の塩基配列、即ち、最大限に見積もっても P4497 Mb o I 座から B56691 Xba I 座までの領域 (約 65 kb) (図 3) に、Rf-1 遺伝子の機能の有無を決定する配列が含まれることが明らかにされた。ただし、Rf-1 遺伝子の一部の遺伝子型がイン  
10      ディカ型であることが、Rf-1 遺伝子の遺伝子機能発現に重要であり、残りの部分はジャポニカ型でもインディカ型でも遺伝子機能に大きな差異を生じない可能性がある。極端な場合、ジャポニカ・インディカ間でコーディング領域は完全に同一で、プロモーター領域だけに違いがあり、そして、プロモーター領域及びコーディング領域の一部のみが上記 P4497 Mb o I 座から B56691  
15      Xba I 座までの領域 (約 65 kb) に含まれることもあり得る。よって、上記共有インディカ型領域 (配列番号 27 の塩基 1239 ないし 66267) が Rf-1 遺伝子全体を完全に包含するとは、断定できない。しかしながら、以下の理由、

1) 遺伝子の大きさは通常数 kb であり 10 kb を超えることは稀である；  
20      2) 本発明で明らかにした IR24 のゲノム塩基配列 (配列番号 27) は、上記共有インディカ型領域を完全に包含する；

3) 配列番号 27 の 5' 末端は、上記共有インディカ型領域の 5' 末端から 1238 bp 上流に位置し、別の遺伝子 (S12564) の一部である；および

4) 配列番号 27 の 3' 末端は、上記共有インディカ型領域の 3' 末端から  
25      10096 bp 下流に位置する  
により、少なくとも配列番号 27 は Rf-1 遺伝子全体を完全に包含すると考えられる。

このように、本発明者らは、まず Rf-1 遺伝子領域を 76 kb まで絞り込むことに成功した。よって、本発明の Rf-1 遺伝子領域を含む核酸は、従来技術

の特開 2 0 0 0 - 1 3 9 4 6 5 に記載の R f - 1 遺伝子からの遺伝子距離が約 1 c M (約 3 0 0 k b) ある共優性マーカー座を用いて選抜した場合よりも、R f - 1 遺伝子の近傍に存在する他の遺伝子を含む可能性が格段に低い。さらに、本発明者らの先の特願 2 0 0 0 - 2 4 7 2 0 4 に記載の DNA マーカー座 S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I と C 1 3 6 1 M w o I 座 (両遺伝子座の距離は約 0. 3 c M) を用いて選抜した場合よりも他の遺伝子を含む可能性が低い。

さらに、本発明者らは相補性試験を行うことにより、配列番号 2 7 の塩基配列のうち、特に塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3 に R f - 1 遺伝子が完全に含まれていることを確認した。よって、本発明の一態様において、配列番号 2 7 の塩基配列又は配列番号 2 7 の塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3 の塩基配列と、少なくとも 7 0 % 同一の塩基配列は、以下の条件 1) 及び 2) の少なくとも一つを満たす：

- 1) 配列番号 2 7 の塩基 4 5 4 6 1 に相当する塩基が A である；及び
- 2) 配列番号 2 7 の塩基 4 9 6 0 9 に相当する塩基が A である。

本発明者らはさらに、R f - 1 遺伝子を含む核酸として以下の領域を特定した。

- a) 配列番号 6 9 の塩基 2 1 5 - 2 5 8 7、
- b) 配列番号 7 0 の塩基 2 1 3 - 2 5 8 5、
- c) 配列番号 7 1 の塩基 2 1 8 - 2 5 9 0、
- d) 配列番号 7 2 の塩基 2 0 8 - 2 5 8 0、
- e) 配列番号 7 3 の塩基 1 4 9 - 2 5 2 1、
- f) 配列番号 7 4 の塩基 2 2 5 - 2 5 9 7、
- h) 配列番号 8 0 の塩基 2 2 9 - 2 6 0 1、
- i) 配列番号 8 1 の塩基 1 7 5 - 2 5 4 7、
- j) 配列番号 8 2 の塩基 2 2 7 - 2 5 9 9、
- k) 配列番号 8 3 の塩基 2 2 0 - 2 5 9 2、
- l) 配列番号 8 4 の塩基 1 7 4 - 2 5 4 6、及び
- m) 配列番号 8 5 の塩基 9 0 - 2 4 6 2。

上記塩基配列は、g) 配列番号 2 7 の塩基 4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9 に対応する。本発明の核酸はさらに、

n) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも 70% 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；

o) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のスリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び

5 p) 上記 a) - m) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

を含む。

上記の配列番号 27 の塩基 45461 は、1) 配列番号 69 の塩基 1769；  
2) 配列番号 70 の塩基 1767；3) 配列番号 71 の塩基 1772；4) 配列  
10 番号 72 の塩基 1762；5) 配列番号 73 の塩基 1703；6) 配列番号 74  
の塩基 1779；7) 配列番号 80 の塩基 1783；8) 配列番号 81 の塩基 1  
729；9) 配列番号 82 の塩基 1781；10) 配列番号 83 の塩基 177  
4；11) 配列番号 84 の塩基 1728；及び 12) 配列番号 85 の塩基 164  
4 に相当する。よって、特に好ましくは、本発明の方法に使用する核酸は、好ま  
15 しくは、以下の条件 1) - 12) の少なくとも一つを満たす：

- 1) 配列番号 69 の塩基 1769 に相当する塩基が A である；
- 2) 配列番号 70 の塩基 1767 に相当する塩基が A である；
- 3) 配列番号 71 の塩基 1772 に相当する塩基が A である；
- 4) 配列番号 72 の塩基 1762 に相当する塩基が A である；
- 20 5) 配列番号 73 の塩基 1703 に相当する塩基が A である；
- 6) 配列番号 74 の塩基 1779 に相当する塩基が A である；
- 7) 配列番号 80 の塩基 1783 に相当する塩基が A である；
- 8) 配列番号 81 の塩基 1729 に相当する塩基が A である；
- 9) 配列番号 82 の塩基 1781 に相当する塩基が A である；
- 25 10) 配列番号 83 の塩基 1774 に相当する塩基が A である；
- 11) 配列番号 84 の塩基 1728 に相当する塩基が A である；又は
- 12) 配列番号 85 の塩基 1644 に相当する塩基が A である。

#### IV. イネの稔性の回復方法

本発明は、配列番号 27 の塩基配列を有する核酸、又は配列番号 27 の塩基配列と少なくとも 70 % 同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸をイネに導入することにより、イネの稔性を回復する方法を提供する。本発明の方法はまた、配列番号 27 の一部、特に、配列番号 27 の塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3、好ましくは、塩基 4 2 3 5 7 - 5 3 7 4 3、より好ましくは、塩基 4 2 1 3 2 - 4 8 8 8 3 の塩基配列を有する核酸、又は配列番号 27 の塩基 3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3、好ましくは、塩基 4 2 3 5 7 - 5 3 7 4 3、より好ましくは、塩基 4 2 1 3 2 - 4 8 8 8 3、さらにより好ましくは塩基 4 2 1 3 2 - 4 6 3 1 8 の塩基配列と少なくとも 70 % 同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸をイネに導入してもよい。

本発明の方法は特に好ましくは、配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸をイネに導入する。最も好ましくは、配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸は、以下の a) - p) の核酸から選択される：

- a) 配列番号 69 の塩基 2 1 5 - 2 5 8 7 を含む核酸；
- b) 配列番号 70 の塩基 2 1 3 - 2 5 8 5 を含む核酸；
- c) 配列番号 71 の塩基 2 1 8 - 2 5 9 0 を含む核酸；
- d) 配列番号 72 の塩基 2 0 8 - 2 5 8 0 を含む核酸；
- e) 配列番号 73 の塩基 1 4 9 - 2 5 2 1 を含む核酸；
- f) 配列番号 74 の塩基 2 2 5 - 2 5 9 7 を含む核酸；
- g) 配列番号 27 の塩基 4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9 を含む核酸；
- h) 配列番号 80 の塩基 2 2 9 - 2 6 0 1 を含む核酸；
- i) 配列番号 81 の塩基 1 7 5 - 2 5 4 7 を含む核酸；
- j) 配列番号 82 の塩基 2 2 7 - 2 5 9 9 を含む核酸；
- k) 配列番号 83 の塩基 2 2 0 - 2 5 9 2 を含む核酸；
- l) 配列番号 84 の塩基 1 7 4 - 2 5 4 6 を含む核酸；
- m) 配列番号 85 の塩基 9 0 - 2 4 6 2 を含む核酸；

n) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも 70% 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；

o) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び

5 p) 上記 a) - m) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

本発明において、イネに導入されうる稔性回復遺伝子 (Rf-1) 座を含む核酸は、先の「III. Rf-1 遺伝子座を含む核酸」において記載の核酸を使用しうる。核酸のイネへの導入方法は特に限定されず、公知の方法を使用することが可能である。本発明の核酸は公知の遺伝子工学的な方法によって導入しても、  
10 あるいは交配によっても導入してもよい。隣接する他の遺伝子の導入を防げる、育種年限を短縮できる、という観点より遺伝子工学的な方法の使用が好ましい。

遺伝子工学的手法による形質導入のためにはいかなる適切な発現系を使用してもよい。組換え発現ベクターは、適切な転写または翻訳制御ヌクレオチド配列、  
15 例えば、哺乳動物、微生物、ウイルス、または昆虫遺伝子由来のものなどに、機能可能であるように連結されている、本発明のイネに導入されうる稔性回復遺伝子 (Rf-1) を含む核酸を含む。

制御配列の例には、転写プロモーター、オペレーター、またはエンハンサー、mRNA リボソーム結合部位、並びに転写および翻訳開始および終結を調節する  
20 適切な配列が含まれる。ヌクレオチド配列は、制御配列が該 DNA 配列に機能的に関連しているとき、機能可能であるように連結されている。したがって、プロモーターヌクレオチド配列は、該プロモーターヌクレオチド配列が DNA 配列の転写を調節するならば、DNA 配列に、機能可能であるように連結されている。  
イネにおいて複製する能力を与える複製起点、および形質転換体を同定する選択  
25 遺伝子が、一般的に発現ベクターに取り込まれている。選択マーカーとしては、通常使用されるものを常法により用いることができる。例えばテトラサイクリン、アンピシリン、またはカナマイシンもしくはネオマイシン、ハイグロマイシンまたはスペクチノマイシン等の抗生物質耐性遺伝子などが例示される。

さらに、必要に応じて適切なシグナルペプチド（天然または異種性）をコードする配列を、発現ベクターに取り込んでもよい。シグナルペプチド（分泌リーダー）のDNA配列を、インフレームで本発明の核酸配列に融合させ、DNAがまず転写され、そしてmRNAがシグナルペプチドを含む融合タンパク質に翻訳されるようにしてもよい

本発明によればまた、本発明の遺伝子を含む組換えベクターが提供される。プラスミドなどのベクターに本発明の遺伝子のDNA断片を組み込む方法としては、例えば、Sambrook, J. ら, Molecular Cloning, A Laboratory Manual (2nd edition), Cold Spring Harbor Laboratory, 1. 53 (1989) に記載の方法などが挙げられる。簡便には、市販のライゲーションキット（例えば、宝酒造製等）を用いることもできる。このようにして得られる組換えベクター（例えば、組換えプラスミド）は、宿主細胞であるイネに導入される。

ベクターは、簡便には当業界において入手可能な組換え用ベクター（例えば、プラスミドDNAなど）に所望の遺伝子を常法により連結することによって調製することができる。本願発明の核酸断片を用いてイネに稔性を付与する場合には、特に、植物形質転換用ベクターが有用である。植物用ベクターとしては、植物細胞中で当該遺伝子を発現し、当該タンパク質を生産する能力を有するものであれば特に限定されないが、例えば、pBI221、pBI121（以上Clontech社製）、及びこれらから派生したベクターが挙げられる。また、特に単子葉植物たるイネの形質転換には、pIG121Hm、pTOK233（以上Hiei ら, Plant J., 6, 271-282 (1994)）、pSB424（Komari ら, Plant J., 10, 165-174 (1996)）などが例示される。

形質転換植物は、上述のベクターの $\beta$ -グルクロニダーゼ（GUS）遺伝子の部位に本願発明の核酸断片を入れ替えて植物形質転換用ベクターを構築し、これを植物に導入することで調整することができる。植物形質転換用ベクターは、少なくともプロモーター、翻訳開始コドン、所望の遺伝子（本願発明の核酸配列ま

たはその一部)、翻訳終始コドンおよびターミネーターを含んでいることが好ましい。また、シグナルペプチドをコードするDNA、エンハンサー配列、所望の遺伝子の5'側および3'側の非翻訳領域、選抜マーカー領域などを適宜含んでもよい。プロモーター、ターミネーターは植物細胞で機能するものであれば特に限定されないが、構成的発現をするプロモーターとしては、上記ベクターに予め組み込まれている35Sプロモーターの他に、アクチン、ユビキチン遺伝子のプロモーターなどが例示される。

プラスミドを宿主細胞に導入する方法としては、一般に、Sambrook, J. ら, Molecular Cloning, A Laboratory Manual (2nd edition), Cold Spring Harbor Laboratory, 1.74 (1989) に記載のリン酸カルシウム法または塩化カルシウム/塩化ルビジウム法、エレクトロポレーション法、エレクトロインジェクション法、PEGなどの化学的な処理による方法、遺伝子銃などを用いる方法などが挙げられる。植物細胞の場合は、例えばリーフディスク法 [Science, 227, 129 (1985)]、エレクトロポレーション法 [Nature, 319, 791 (1986)] によって形質転換することができる。

特に植物への遺伝子導入法としては、アグロバクテリウムを用いる方法 (Horsch et al., Science, 227, 129 (1985)、Hiei et al., Plant J., 6, 271-282 (1994))、エレクトロポレーション法 (Fromm et al., Nature, 319, 791 (1986))、PEG法 (Paszkowski et al., EMBO J., 3, 2717 (1984))、マイクロインジェクション法 (Crossway et al., Mol. Gen. Genet., 202, 179 (1986))、微小物衝突法 (McCabe et al., Bio/Technology, 6, 923 (1988)) などが挙げられる。所望の植物に核酸を導入する方法であれば特に限定されない。

一方、交配による導入の場合には、例えば、以下のようにして行うことが可能である。まず、Rf-1 供与親とジャポニカ品種とを交雑して得られたF<sub>1</sub>に、

ジャポニカ品種を戻し交雑する。得られた個体のなかから、S 1 2 5 6 4 T  
s p 5 0 9 I座がジャポニカ型ホモ、P 4 4 9 7 M b o I座及びB 5 3 6 2 7  
B s t Z 1 7 I座がヘテロの個体を選別し、さらなる戻し交雑に供試する。得ら  
れた個体のなかから、P 4 4 9 7 M b o I座及びB 5 6 6 9 1 X b a I座が  
5 ヘテロ、B 5 3 6 2 7 B s t Z 1 7 I座がジャポニカ型ホモの個体を選抜し、  
さらなる戻し交雑に供試する。以後は、戻し交雑各世代で、P 4 4 9 7 M b o  
I座及びB 5 6 6 9 1 X b a I座がヘテロの個体を選抜し、次の戻し交雑に供  
試する、という工程を10回程度繰り返す。最後に、P 4 4 9 7 M b o I座及  
びB 5 6 6 9 1 X b a I座がヘテロの個体を自殖させ、得られた個体から両座  
10 がインディカ型ホモの個体を選抜することにより、P 4 4 9 7 M b o I座から  
B 5 6 6 9 1 X b a I座までの限定された染色体領域をR f - 1 供与親から引  
き継ぐ回復系統を得ることができる。

本発明において、稔性回復遺伝子 (R f - 1) を含む核酸が単離されたことに  
より、R f - 1 遺伝子を遺伝子工学の技術を用いてイネ品種に導入し、回復系統  
15 を育成することが可能となった。本発明ではR f - 1 領域を先ず76 kb以下に  
まで絞り込むことに成功した。よって本発明のR f - 1 遺伝子座を含む核酸は、  
従来技術と比較して、R f - 1 遺伝子の近傍に存在する他の遺伝子を含む可能性  
が格段に低い。さらに、本発明はR f - 1 遺伝子を含む領域の全塩基配列を明ら  
かにした。当業者は、本明細書の記載に基づきR f - 1 遺伝子自体の解析するこ  
20 とが進めることができる。よって、隣接する遺伝子を全く含まずにR f - 1 遺伝  
子のみを導入することも可能となった。これは、隣接遺伝子が劣悪形質をもたら  
す遺伝子である場合に特に重要である。さらに、交雑の場合より早く、1～2年  
の短期間での回復系統を育成も可能となった。

そして、本明細書中の実施例4-13及び17に記載の相補性試験では実際  
25 に、図5に記載の10個のクローン由来の断片を用い、アグロバクテリウムを用  
いる方法によりMSコシヒカリ (BT細胞質を持ち、核遺伝子はコシヒカリとほ  
ぼ同一) を形質転換した。その結果、配列番号27の塩基38538-5412  
3、好ましくは、塩基42357-53743、より好ましくは、塩基4213



2-48883、さらにより好ましくは塩基42132-46318の塩基配列を含む核酸によって、稔性回復系統が育成されることが証明された。

限定されるわけではないが、アグロバクテリウムを用いるイネの回復系統の作成方法は、例えば、Hiei et al., Plant J., 6, p. 271-282 (1994)、Komari et al., Plant J., 10, p. 165-174 (1996)、Ditta et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: p. 7347-7351 (1980) 等に記載されている。

10 先ず、所期の挿入したい核酸断片を含むプラスミドベクターを作成する。プラスミドベクターは、例えば、前記Komari et al., Plant J., 10, p. 165-174 (1996) ちにプラスミドマップが記載されている、pSB11、pSB22等が使用可能である。あるいは、当業者は例えば前記pSB11、pSB22等のプラスミドベクターを基に、自ら適当なベクターを構築する事も可能である。本明細書後述する実施例では、pSB11を  
15 基に、ハイグロマイシン耐性遺伝子カセットを持つ中間ベクターpSB200を作成して使用した。具体的には、先ず、ユビキチンプロモーターとユビキチンイントロン (Pubi-ubi I) に、ノパリン合成酵素のターミネーター (Tnos) を接続した。これより得られたPubi-ubi I-Tnos接続体のubi I-Tnos間に、ハイグロマイシン耐性遺伝子 (HYG (R)) を挿入す  
20 ることにより、Pubi-ubi I-HYG (R)-Tnosからなる接続体を得た。この接続体を、pSB11 (Komariら、上述) のHind III/EcoRI断片に接続することにより、pKY205を得た。このpKY205のPubi上流に存在するHind III部位にNot I、NspV、EcoRV、KpnI、SacI、EcoRIの制限酵素部位を追加するためのリンカー  
25 配列を挿入することにより、ハイグロマイシン耐性遺伝子カセットを有するpSB200を得た。

次いで、挿入核酸を含む組換えベクターを用いて大腸菌 (例えばDH5 $\alpha$ 、JM109、MV1184等、いずれも例えばTAKARA社より購入可能) を形質転換する。

さらに、形質転換された大腸菌を用いて、アグロバクテリウム菌株を好ましくはヘルパー大腸菌株とともに、例えば、Ditt a et al (1980)の方法に従い、三菌系交雑 (triparential mating) を行う。限定されるわけではないが、アグロバクテリウムは例えば、Agrobacterium tumefaciens 菌株 LBA4404/pSB1、LBA4404/pNB1、LBA4404/pSB3等を使用することが可能である。いずれも前述のKomari et al., Plant J., 10, p. 165-174 (1996) にプラスミドマップが記載されており、当業者は例えば自らベクター構築を行うことにより使用可能である。限定されるわけではないが、ヘルパー大腸菌は、例えばHB101/pRK2013 (クローンテック社より入手可能) 等が使用可能である。また、より一般的ではないがpRK2073を保有する大腸菌もヘルパー大腸菌として使用可能との報告がある (Lemas et al., Plasmid 1992, 27, p. 161-163)。

次いで、所期の交配が生じたアグロバクテリウムを用いて、例えば、Hieiet al (1994)の方法に準拠し、雄性不稔イネの形質転換を行う。形質転換に必要なイネ未熟種子は、例えば、雄性不稔イネにジャポニカ品種の花粉をかけることにより作成できる。

形質転換植物の稔性回復は、例えば出穂約1か月後に、種子稔性を立毛調査することによって調べることが可能である。立毛調査とは、圃場などで栽培されている状態で観察する方法である。あるいは、実験室で穂の稔実率を調べる稔実率調査を行ってもよい。

#### V. Rf-1 遺伝子の存在の有無の識別方法

本発明においてRf-1 遺伝子の機能の有無を決定する配列が、イネ第10染色体上の約65 kbの多型検出用マーカー座P4497 Mb o IとB56691 Xba Iの間に存在することが明らかにされた。さらに、相補性試験により、配列番号27の塩基配列のうち、特に塩基38538-54123にRf-1 遺伝子が完全に含まれていることが確認された。

また、R f - 1 遺伝子を有するインディカ型品種 ( I R 2 4 ) ( 配列番号 2 7 ) と当該遺伝子を有しないジャポニカ型品種 ( あそみのり ( 配列番号 2 8 ) および日本晴 B A C クローン A C 0 6 8 9 2 3 ) の塩基配列を比較し、両者に複数の多型 ( p o l y m o r p h i s m ) が存在することが明らかになった。その結果、R f - 1 遺伝子近傍領域における塩基配列の多型を利用することにより、被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有するか否かを、簡便、迅速かつ正確に識別することが可能となった。

よって、本発明はまた、R f - 1 遺伝子の機能の有無を決定する配列がイネ第 1 0 染色体上の多型検出用マーカー座 P 4 4 9 7 M b o I と B 5 6 6 9 1 X b a I の間に存在することを利用して、被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有するか否かを識別する方法を提供する。

多型の検出は公知の任意の方法を使用して行うことが可能である。例えば、制限酵素断片長の多型 ( r e s t r i c t i o n f r a g m e n t l e n g t h p o l y m o r p h i s m ; R F L P ) を調べる方法、塩基配列の決定により直接的に決定する方法、ゲノム DNA を 8 塩基認識制限酵素で切断後、末端を放射能標識し、さらに、6 塩基および 4 塩基認識制限酵素で切断し、2 次元電気泳動で展開する方法 ( R L G S 法、R e s t r i c t i o n L a n d m a r k G e n o m e S c a n n i n g ) 等が知られている。さらに、R F L P をポリメラーゼ連鎖反応 ( P C R ) によって増幅・検出する A F L P ( a m p l i f i e d f r a g m e n t l e n g t h p o l y m o r p h i s m ; P. Vos, ら、N u c l e i c A c i d s R e s . V o l . 2 3 , p . 4 4 0 7 - 4 4 1 4 ( 1 9 9 5 ) ) 分析も開発されている。

例えば、従来より以下に例示するような R F L P を P C R 増幅を用いて検出する方法 ( R F L P マーカーの P C R マーカー化 ) 、マイクロサテライトの多型を P C R 増幅を用いて検出する方法 ( マイクロサテライトマーカー ) が採用されてきた。

#### R F L P マーカーの P C R マーカー化

A. R F L P プローブ対応ゲノム領域の多型を利用して P C R マーカー化する方法 ( D. E. H a r r y , B. T e m e s g e n , D. B. N e a l e ; C

odominant PCR-based markers for Pinus taeda developed from mapped cDNA clones, Theor. Appl. Genet. (1998) 97: p. 327-336)。これは、RFLPマーカープローブ配列（「RFLP」は、  
5 あるDNA断片をプローブに用いてサザン解析を行った場合に観察される多型である。プローブに用いたDNA断片の塩基配列を「RFLPマーカープローブ配列」と呼ぶ。）に対して設計したプライマーを用いてゲノムPCRを行った後、次の二方法のいずれかによりPCRマーカーク化できる。第1は、産物を一連の制限酵素で処理し、断片長多型を生じる制限酵素を探索する手法であり、第2は、  
10 産物の塩基配列を品種間比較して多型を探索し、その多型を利用してPCRマーカーク化する方法である。

B. RFLP原因部位を同定してPCRマーカーク化する方法。これは、RFLPマーカープローブ配列内あるいはその周辺（通常数kb以内）に存在するRFLP原因部位（比較する2品種の一方のみが持つ制限酵素認識部位）を同定す  
15 ることにより、PCRマーカーク化する方法である。

#### マイクロサテライトマーカーク

マイクロサテライトとは、(CA)<sub>n</sub>のような2ないし4塩基程度の繰り返し配列であり、ゲノム中に多数存在している。繰り返し数に品種間多型がある場合、隣接領域に設計したプライマーを用いてPCRを行うと、PCR産物長に多  
20 型が観察され、DNA多型を検出することが可能となる。マイクロサテライトを利用した多型検出マーカークは、マイクロサテライトマーカークと呼ばれている

(O. Parnaud, X. Chen, S. R. McCouch, , Mol. Gen. Genet. (1996) 252: p. 597-607)。

本発明において多型の検出方法は特に限定されない。効率、簡便性の観点より、PCRとRFLPを組み合わせ、比較する品種系統間において、PCRにより増幅したDNA断片配列中の制限酵素認識部位に多型が存在する場合に、その制限酵素による切断パターンからいずれの型であるかを決定するPCR-RFLP法が好ましい。PCR-RFLP法は、CAPS (cleaved amplified polymorphic sequence) 法とも呼ばれる。  
25

多型が見出される部位に適当な制限酵素認識部位が存在しない場合、PCRの際に制限酵素部位を導入するCAPSの修飾法、dCAPS (derived cleaved amplified polymorphic sequence) も使用可能である (Michaels, S. D. and Amasino, R. M. (1998), The Plant Journal 14 (3) 381-385; A. Koniecznyら, (1993), Plant J. 4 (2) p. 403-410; Neff, M. M., Neff, J. D., Chory, J. and Pepper, A. E. (1998), The Plant Journal 14 (3) 387-392)。以下、  
より詳細に説明する。

#### CAPS法、dCAPS法

限定されるわけではないが、本発明の識別方法では

i) Rf-1 遺伝子座において、インディカ品種とジャポニカ品種の塩基配列において多型が見出される部位およびその隣接領域の塩基配列に基づいて、当該塩基配列を増幅するようにプライマー対を作成し；

ii) 被検定イネ個体又は種子のゲノムDNAを鋳型として核酸増幅反応を行い；そして

iii) 前記核酸増幅産物に見出される多型に基づいて、被検定イネ個体又は種子がRf-1 遺伝子を有するか否かを判断する。

工程 i) におけるプライマー対の作成は、好ましくは

a) 前記核酸増幅産物の多型中に欠失領域を有する型が存在する場合、当該欠失領域の両側に欠失領域を挟むように核酸増幅用プライマー対を作成し、多型検出用マーカーとする；

b) 前記核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じる塩基置換が存在する場合、当該塩基置換部位の両側に置換部位を挟むように核酸増幅用プライマー対を作成し、多型検出用マーカーとする；または

c) 前記核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じない塩基置換が存在する場合、当該塩基置換部位を含み、そして、当該塩基置換部位を含む領域

を核酸増幅産物では制限酵素認識に差異を生じるような塩基配列に変更するようなミスマッチ導入用プライマー対を作成し、多型検出用マーカーとする；  
のいずれかの手段を含む。

限定されるわけではないが、本発明において、R f - 1 遺伝子の存在を識別するために利用可能な適当な多型部位は、例えば、R f - 1 遺伝子を有するインディカ型品種（I R 2 4）（配列番号 2 7）と当該遺伝子を有しないジャポニカ型品種（あそみのり（配列番号 2 8）およびB A C クローン A C 0 6 8 9 2 3）の塩基配列を比較し、以下のように多型検出用マーカーの作成が可能となるように、適宜選択することができる。

例えば、見出された多型が制限酵素認識部位に差異を生じる場合、当該多型部位の両側に多型部位を挟むように核酸増幅プライマーを作成し、多型検出用に用いる。プライマーを設計する際は、不要な産物を避けるために、反復性の高い配列に対して設計しない方が好ましい。見出された多型が制限酵素認識に差異を生じない場合、記述の d C A P S 法を適用することにより、マーカーを作成することができる。d C A P S マーカーのプライマーを設計する際は、反復配列に対して設計しない方が好ましいことに加え、多型を識別しやすするため産物長が、好ましくは 5 0 - 3 0 0 塩基、より好ましくは 1 0 0 塩基程度となるようにするとよい。

見出された多型がマイクロサテライトに関するものであれば、当該マイクロサテライトを挟むように核酸増幅用プライマーを作成し、多型検出用に用いる。この場合も、反復配列に対してプライマーを設計しない方が好ましい。

#### 1) 核酸増幅

本発明では、好ましくは、解明された被検定イネ個体又は種子の R f - 1 遺伝視座の核酸配列の塩基配列に基づいて、多型を含む隣接領域を増幅するようにプライマー対を作成する。当該プライマーを使用して、被検定イネ個体又は種子のゲノム DNA を鋳型に核酸増幅反応を行う。核酸増幅反応は好ましくは、複製連鎖反応（P C R）（サイキら、1 9 8 5, S c i e n c e 2 3 0, p. 1 3 5 0 - 1 3 5 4）である。

核酸増幅のためのプライマー対は、多型部位およびその隣接領域の塩基配列に基づき公知の方法により作成することが可能である。具体的には、限定されるわけではないが、例えば、多型部位およびその隣接領域の塩基配列に基づき、以下の条件：

- 5        1) 各プライマーの長さが 15 – 30 塩基であること；
  - 2) 各プライマーの塩基配列中の G + C の割合が 30 – 70 % であること；
  - 3) 各プライマーの塩基配列中の A、T、G および C の分布が部分的に大きく偏らないこと；
  - 4) プライマー対によって増幅される核酸増幅産物の長さが 50 – 3000
  - 10   塩基、好ましくは 50 – 300 塩基であること；そして
  - 5) 各プライマー自身の塩基配列中、又はプライマー同士の塩基配列間に相補的な配列部分が存在しないこと
- を満たすように、多型部位およびその隣接領域の塩基配列と同じ塩基配列若しくは上記領域に相補的な塩基配列を有する一本鎖 DNA を製造し、または、必要であれば多型部位およびその隣接領域の塩基配列に対する結合特異性を失わないように修飾した上記一本鎖 DNA を製造する
- 15   ことを含む方法により、プライマー対を作成できる。

- 本発明において増幅される、多型部位の「隣接領域」とは、多型とその隣接領域の双方を含む領域が、好ましくは、PCR 法等の核酸増幅が可能な距離の範囲
- 20   内にあることを意味する。限定されるわけではないが、好ましくは増幅される隣接領域が約 50 塩基ないし約 3000 塩基、より好ましくは約 50 塩基ないし約 2000 塩基の範囲内にある。多型を識別しやすするためは、産物長が好ましくは 50 – 300 塩基、より好ましくは 100 塩基程度となるようにするとよい。限定されるわけではないが、隣接領域は、多型部位の 5' 側または 3' 側に
- 25   好ましくは約 0 塩基ないし約 3000 塩基、より好ましくは約 0 塩基ないし約 2000 塩基、より好ましくは約 0 塩基ないし約 1000 塩基の範囲内にある。

核酸増幅反応の手順及び条件は特に限定されず、当業者に周知である。当業者は、多型部位およびその隣接領域の塩基配列、プライマー対の塩基配列および長さ等の種々の要因に応じて適宜、条件を採用することが可能である。一般には、

プライマー対の長さが長い程、G + Cの割合が高いほど、A、T、GおよびCの分布の偏りが小さい程よりストリンジェントな条件（より高温でのアニーリング反応および核酸伸長反応、より少ないサイクル数）で核酸増幅反応を行うことが可能である。よりストリンジェントな条件の採用により、特異性の高い増幅反応が可能となる。

増幅反応は、限定されるわけではないが、例えば、鋳型として使用するゲノムDNA 50 ng、dNTP各200  $\mu$ M、ExTaq<sup>TM</sup>（TAKARA）5 Uを使用し、例えば、94℃にて2分を1サイクル行った後、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて2分を1サイクルとして30サイクル行い、最後に72℃にて2分を1サイクル行うことにより行うことができる。あるいは、94℃にて2分を1サイクル行った後、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて1分を1サイクルとして30サイクル行い、最後に72℃にて2分を1サイクル行うことにより行うこともできる。あるいは、別の態様においては、94℃にて2分を1サイクル行った後、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとして35サイクル行い、最後に72℃にて2分を1サイクル行うことにより行うこともできる。

PCRの鋳型として使用する被検定イネゲノムのDNAは、Edwardsら（Nucleic Acids Res. 8（6）：1349，1991）の方法で、個体又は種子より簡易に抽出することができる。より好ましくは、標準的な方法により精製したDNAを用いるのがよい。CTAB法（Murray M. G.， et al.， Nucleic Acids Res. 8（19）：4321-5，1980）は、特に好ましい抽出法である。PCRを行うための鋳型として使用するDNAの濃度は、終濃度で0.5 ng/ $\mu$ l が好ましい。

## 2) 多型検出用マーカーの作成

上記プライマー対を用いた核酸増幅反応により、増幅産物に多型が検出されるか否かを調査し、見出された多型に基づいて多型検出用マーカーを作成する。限定されるわけではないが、増幅産物に検出されうる多型としては以下のようなものがある。



a) 前記核酸増幅産物の多型中に欠失領域を有する型が存在する場合

このような場合、欠失領域の両側に欠失領域を挟むように核酸増幅用プライマー対を作成し、多型検出用マーカーとする。欠失領域の大きさが十分な場合、例えば増幅産物をアガロースゲル電気泳動又はアクリルアミドゲル電気泳動等することにより、泳動度の差により多型の検出が可能である。例えば、アガロースゲル電気泳動の場合には塩基対数に約5%以上の差がある場合、シーケンス用アクリルアミドゲル電気泳動の場合には約1塩基以上長さに差がある場合検出可能である。または、欠失領域外の塩基配列に相補的な配列を有するオリゴヌクレオチド若しくはDNA断片を解析用プローブとして、核酸増幅産物に対してハイブリダイゼーションを行うことにより、多型を検出することができる。あるいは、必要に応じ、増幅産物の塩基配列を決定して多型を確認してもよい。核酸の電気泳動、ハイブリダイゼーション、塩基配列の決定等は公知の方法を使用でき、当業者は適宜採用可能である。このような場合は、増幅産物の長さの相違が直接多型を生じるので、これを利用した多型検出用マーカーをALP (amplicon length polymorphism) マーカーと言う。

b) 前記核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じる塩基置換が存在する場合

このような場合、当該塩基置換部位の両側に置換部位を挟むように核酸増幅用プライマー対を作成し、多型検出用マーカーとする。このような場合、核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じる塩基置換が存在する、即ち、核酸増幅産物中に、特定の1または複数の制限酵素で切断されるものとされないものが存在する。よって、得られた増幅産物を制限酵素処理し、例えばアガロースゲル等で電気泳動し、泳動度の差により多型を検出することが可能である。必要に応じ、増幅産物の塩基配列を決定して多型を確認してもよい。

このような場合、PCR等による増幅産物の制限酵素断片の長さの相違が多型を生じるので、これを利用した多型検出用マーカーをCAPSマーカーまたはPCR-RFLPマーカーという(A. Koniecznyら、上述)。

後述する実施例1のプライマー対P4497 MboI、P23945 MboI、P41030 TaqI、P45177 BstUI、B59066 B

s a J I 及び B 5 6 6 9 1 X b a I がこのような場合に相当する。なお、前記 a) の核酸増幅産物の長さで多型を検出可能な場合であっても制限酵素処理を併用することにより、多型がより検出しやすくなる場合がある。

5 c) 前記核酸増幅産物の多型中に制限酵素認識に差異を生じない塩基置換が存在する場合

このような場合、当該塩基置換部位を含み、そして、当該塩基置換部位を含む領域を核酸増幅産物では制限酵素認識に差異を生じるような塩基配列に変更するようなミスマッチ導入プライマー対を作成し、多型検出用マーカーとする。

10 具体的には、天然の R f - 1 遺伝子近傍領域の塩基配列に基づくプライマー対では核酸増幅産物に多型を生じるが制限酵素認識に差異を生じないため、片方のまたは双方のプライマーにミスマッチを導入し、当該塩基置換部位（多型）を含む領域を核酸増幅産物では制限酵素認識に差異を生じるような塩基配列に変更する。例えば、P C R 法を用いた部位特異的変異の導入による特定ヌクレオチドの置換、欠失又は付加の一般的な技術は、例えば M i k a e l i a n ら、N u c  
15 l . A c i d s . R e s . 2 0 : 3 7 6 . 1 9 9 2 に記載された方法を用いることができる。上記ミスマッチ導入プライマーを多型検出用マーカーとして用いた増幅産物では、ミスマッチ導入部位において制限酵素認識に差異を有するため、核酸増幅産物中に、特定の 1 または複数の制限酵素で切断されるものとされないものが存在する。よって、上述の b) の場合と同様に得られた増幅産物を制限酵  
20 素処理し、例えばアガロースゲル等で電気泳動し、泳動度の差により多型を検出することが可能である。

ミスマッチの導入は、プライマーの標的植物ゲノムへの結合性を失わせず、また、多型を生じている塩基置換を変化させるものであってならない。多型を生じている塩基置換を利用してその近傍にミスマッチを導入して、塩基置換とミス  
25 マッチの双方の組み合わせにより制限酵素認識に差異が生じるようにする。このようなミスマッチの導入法は当業者に公知であり、例えば、M i c h a e l s , S . D . and A m a s i n o , R . M . ( 1 9 9 8 ) 、 N e f f , M . M . , N e f f , J . D . , C h o r y , J . and P e p p e r , A . E . ( 1 9 9 8 ) 等に詳述されている。

このような場合のマーカ―は、前述のb)のCAPSマーカ―の改良であり、dCAPS (derived CAPS) マーカ―という。後述する実施例3のP9493 Bsl Iがこのような場合に相当する。

なお、上記のb)またはc)の場合において、品種間の多型とは無関係の余分な制限酵素部位が多く存在すると、多型に基づく制限酵素部位認識の相違が識別しにくくなる場合がある。このような場合、必要に応じプライマーにミスマッチを導入し、不必要な制限酵素部位をつぶしてもよい。例えば、実施例3のB60304 Msp Iでは、Rプライマーにミスマッチを導入して多型と無関係なMsp I部位をつぶしている。

限定されるわけではないが、CAPS法又はdCAPS法は、他のRFLP法等と比較していくつかの利点を有する。具体的には、例えば、RFLP法と比較して、少量のサンプルで分析できる。分析に要する時間および労力を大きく軽減できる、といった利点がある。マイクロサテライトマーカ―と比較しても、作成したPCRマーカ―の多型検出がアクリルアミド電気泳動よりも容易なアガロースゲル電気泳動で行えるという利点がある。

#### 本発明の識別方法の好ましい実施態様

以下、例示のために本発明の被検定イネがRf-1遺伝子を有するか否かを識別する方法の好ましい態様を記載する。本明細書の実施例においてRf-1遺伝子を有するインディカ型品種IR24の塩基配列（配列番号27）において、ジャポニカ型品種の対応する領域と比較した結果、少なくとも以下の1) - 8)の多型を有することを見出した。

- 1) 配列番号27の塩基1239に相当する塩基がAである；
- 2) 配列番号27の塩基6227に相当する塩基がAである；
- 3) 配列番号27の塩基20680に相当する塩基がGである；
- 4) 配列番号27の塩基45461に相当する塩基がAである；
- 5) 配列番号27の塩基49609に相当する塩基がAである；
- 6) 配列番号27の塩基56368に相当する塩基がTである；
- 7) 配列番号27の塩基57629に相当する塩基がCである；及び
- 8) 配列番号27の塩基66267に相当する塩基がGである。

よって、本発明の好ましい実施態様において、上記 1) - 8) の条件のいずれか 1 つないし全部を満たす場合に、被検定イネの個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有すると判断する。

さらに、本発明者らは配列番号 27 の塩基配列のうち、特に塩基 3 8 5 3 8 -  
5 5 4 1 2 3、好ましくは、塩基 4 2 3 5 7 - 5 3 7 4 3、より好ましくは、塩基  
4 2 1 3 2 - 4 8 8 8 3、さらにより好ましくは塩基 4 2 1 3 2 - 4 6 3 1 8 に  
R f - 1 遺伝子の機能発現に必須の領域が含まれていることを確認した。よっ  
て、本発明の一態様において、配列番号 27 の塩基配列又は配列番号 27 の塩基  
3 8 5 3 8 - 5 4 1 2 3 の塩基配列と、少なくとも 70 % 同一の塩基配列が、以  
下の条件 1) 及び 2) の少なくとも一つを満たす場合に、被検定イネの個体又は  
種子が R f - 1 遺伝子を有すると判断する：

- 1) 配列番号 27 の塩基 4 5 4 6 1 に相当する塩基が A である；及び
- 2) 配列番号 27 の塩基 4 9 6 0 9 に相当する塩基が A である。

上記の条件を満たすか否かは、公知の多型の検出方法を使用することが可能で  
ある。上記配列を含む隣接領域の塩基配列を直接決定してもよい。しかしなが  
ら、迅速性、簡便性の観点より、上述した CAPS 法又は dCAPS 法を採用す  
ることが好ましい。CAPS 法又は dCAPS 法は、例えば以下のように行うこ  
とが可能である。

i) 以下のいずれかの塩基、

- 1) 配列番号 27 の塩基 1 2 3 9 に相当する塩基；
- 2) 配列番号 27 の塩基 6 2 2 7 に相当する塩基；
- 3) 配列番号 27 の塩基 2 0 6 8 0 に相当する塩基；
- 4) 配列番号 27 の塩基 4 5 4 6 1 に相当する塩基；
- 5) 配列番号 27 の塩基 4 9 6 0 9 に相当する塩基；
- 6) 配列番号 27 の塩基 5 6 3 6 8 に相当する塩基；
- 7) 配列番号 27 の塩基 5 7 6 2 9 に相当する塩基；及び
- 8) 配列番号 27 の塩基 6 6 2 6 7 に相当する塩基

を含む隣接領域の塩基配列に基づいて、上記塩基と隣接領域の双方を増幅するよ  
うにプライマー対を作成し；

i i) 被検定イネ個体又は種子のゲノムDNAを鋳型として核酸増幅反応を行い；そして

i i i) 前記核酸増幅産物に見出される多型に基づいて被検定イネ個体又は種子がRf-1遺伝子の有無を識別する。

5      核酸増幅反応産物の多型の検出は、限定されるわけではないが、例えば以下の1) - 8) の1つないし全てを満たす場合に被検定イネ個体又は種子がRf-1遺伝子を有すると判断する、ことによる。

1) 配列番号27の塩基1239に相当する塩基を含む領域が、MboI認識配列を有しない；

10      2) 配列番号27の塩基6227に相当する塩基を含む領域が、BslI認識配列を有しない；

3) 配列番号27の塩基20680に相当する塩基を含む領域が、MboI認識配列を有する；

15      4) 配列番号27の塩基45461に相当する塩基を含む領域が、TaqI認識配列を有しない；

5) 配列番号27の塩基49609に相当する塩基を含む領域が、BstUI認識配列を有しない；

6) 配列番号27の塩基56368に相当する塩基を含む領域が、MspI認識配列を有しない；

20      7) 配列番号27の塩基57629に相当する塩基を含む領域が、BsaJI認識配列を有しない；及び

8) 配列番号27の塩基66267に相当する塩基を含む領域が、XbaI認識配列を有しない。

25      ただし、上記1) - 8) の領域の各多型を検出可能な制限酵素であれば、上記に限定されるものではない。

本発明の識別方法は、好ましくは、

i) 以下のいずれかの塩基、

1) 配列番号27の塩基45461に相当する塩基；又は

2) 配列番号27の塩基49609に相当する塩基；

を含む隣接領域の塩基配列に基づいて、上記塩基と隣接領域の双方を増幅するようにプライマー対を作成し；

i i) 被検定イネ個体又は種子のゲノムDNAを鋳型として核酸増幅反応を行い；そして

- 5 i i i) 前記核酸増幅産物に見出される多型に基づいて被検定イネ個体又は種子がRf-1遺伝子の有無を識別する。限定されるわけではないが、工程i i i) が、以下の条件1) 及び2) の少なくとも一つを満たす場合に被検定イネ個体又は種子がRf-1遺伝子を有すると判断する：

10 1) 配列番号27の塩基45461に相当する塩基を含む領域が、TaqI 認識配列を有しない；及び

2) 配列番号27の塩基49609に相当する塩基を含む領域が、BstUI 認識配列を有しない。

上記の配列番号27の塩基45461は、1) 配列番号69の塩基1769；  
2) 配列番号70の塩基1767；3) 配列番号71の塩基1772；4) 配列  
15 番号72の塩基1762；5) 配列番号73の塩基1703；6) 配列番号74  
の塩基1779；7) 配列番号80の塩基1783；8) 配列番号81の塩基1  
729；9) 配列番号82の塩基1781；10) 配列番号83の塩基177  
4；11) 配列番号84の塩基1728；及び12) 配列番号85の塩基164  
4に相当する。

- 20 増幅反応に使用するプライマー対は、配列番号27の塩基配列に基づき、好ましくは前述した条件を満たすように当業者が適宜選択可能である。好ましくは、配列番号39及び40、配列番号41及び42、配列番号43及び44、配列番号45及び46、配列番号47及び48、配列番号49及び50、配列番号51及び52、並びに配列番号53及び54からなるグループから選択される塩基配  
25 列を有するいずれかのプライマー対を使用する。より好ましくは、プライマー対は、配列番号45及び46、並びに配列番号47及び48からなるグループから選択される。または、必要であれば上記プライマー対の配列に基づき、多型部位およびその隣接領域の塩基配列に対する結合特異性を失わないように置換、欠失又は付加を施した配列をプライマーとして採用することも可能である。

得られたPCR産物を、制限酵素断片長多型に関して調べるため、それぞれのPCRマーカに存在する制限部位に対応する制限酵素で切断する。この切断は、用いる制限酵素の推奨反応温度で数時間～一昼夜インキュベーションすることにより行う。制限酵素で切断したそれぞれの増幅PCRサンプルは、例えば約0.7%ないし2%アガロースゲルあるいは約3%のMetaPhor™アガロースゲルで電気泳動することにより解析する。例えば、ゲルをエチジウムブロマイド中紫外線下で可視化する。

本発明の最も好ましい態様において、制限酵素による切断パターンとしては、可視化されたゲル上に、使用するプライマー対に応じて、以下の表2のようなバンドの存在の有無が確認される。

表 2

				検出されるバンドの おおよそのサイズ (b p)
P 4 4 9 7   M o b I による増幅   制限酵素   M b o I				
(配列番号 3 9 および 4 0)				
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合 (ホモ) :				7 3 0
有しない場合:				3 8 5、3 4 5
P 9 4 9 3   B s l I による増幅   制限酵素   B s l I				
(配列番号 4 1 および 4 2)				
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合 (ホモ) :				1 2 6
有しない場合:				1 0 0、2 6
P 2 3 9 4 5   M b o I による増幅   制限酵素   M b o I				
(配列番号 4 3 および 4 4)				
被検定イネゲノムがRf-1遺伝子を有する場合 (ホモ) :				1 6 0、1 0 0
有しない場合:				2 6 0

有しない場合: 90、190

有しない場合: 20, 65, 175, 555

有しない場合: 2 2 0、1 1 0

有しない場合: 6 5、3 5 5

有しない場合: 1 4 0、5 3 0

51



を含めた 14 種の多型マーカーを使用して、R f - 1 領域の染色体構成を調べた。その結果、いずれの個体も P 9 4 9 3 B s l I ないし 5 9 0 6 6 B s a J I の間については、インディカ型品種由来の R f - 1 遺伝子を有することが確認された。この結果から、図 3 で示したような染色体構成をもつ組換え型花粉において、花粉の受精能力があること、すなわち、R f - 1 遺伝子が機能していることが示された。これは、これらの組換え型花粉が共有するインディカ型領域、すなわち、最大限に見積もっても P 4 4 9 7 M b o I 座から B 5 6 6 9 1 X b a I 座までの領域（約 6 5 k b）に、R f - 1 遺伝子の機能の有無を決定する配列が含まれることを意味する。

なお、本発明では、交雑による個体の出現頻度から S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座と R f - 1 座とが非常に近接しているとの予測に基づき、染色体歩行を始めた。実際、本発明の高精度分離分析の結果、両座の遺伝的距離は約 0. 0 4 c M と算出された。現在公知となっている R f - 1 座連鎖マーカーのなかで、最も密接に連鎖しているマーカーは、先述の特開 2 0 0 0 - 1 3 9 4 6 5 に記載されているマーカーのひとつであるが、そのマーカーでも R f - 1 座との遺伝的距離は 1 c M と記載されている。イネの場合、平均すると 1 c M は 3 0 0 k b に相当すると考えられており、特開 2 0 0 0 - 1 3 9 4 6 5 のマーカーを起点に染色体歩行を開始したのでは、R f - 1 遺伝子領域の絞込みに相当の時間を要したと考えられる。

#### V I . R f - 1 遺伝子の稔性回復機能の抑制方法

本発明において、稔性回復機能を有する核酸を含む、稔性回復遺伝子（R f - 1）座を含む核酸が単離され、その全塩基配列が決定されたことにより、R f - 1 遺伝子の稔性回復機能を遺伝子工学的に制御することが可能となった。よって、本発明は、さらに、R f - 1 遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法を提供する。

本発明の R f - 1 遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法は、例えば、配列番号 2 7 の塩基配列を有する核酸、又は配列番号 2 7 の塩基配列と少なくとも 7 0 % 同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸、に対し相補的な塩基配列

から選択される、連続した少なくとも100塩基の長さのアンチセンスを導入する、ことを含む。

本発明のRf-1遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法は、一態様において、配列番号27の塩基38538-54123、好ましくは、塩基42357-53743、より好ましくは、塩基42132-48883の塩基配列を有する核酸、又は配列番号27の塩基38538-54123、好ましくは、塩基42357-53743、より好ましくは、塩基42132-48883、さらにより好ましくは塩基42132-46318の塩基配列と少なくとも70%同一の塩基配列であって、稔性回復機能を有する核酸、に対し相補的な塩基配列から選択される、連続した少なくとも100塩基の長さのアンチセンスを導入することを含む。

本発明のRf-1遺伝子の稔性回復機能を抑制する方法は、特に、好ましい一態様において、配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸、に対し相補的な塩基配列から選択される、連続した少なくとも100塩基の長さのアンチセンスを導入することを含む。

最も好ましくは、配列番号75のアミノ酸配列、又は配列番号75のアミノ酸配列と少なくとも70%同一のアミノ酸配列をコードする核酸は、以下のa)-p)の核酸から選択される：

- a) 配列番号69の塩基215-2587を含む核酸；
- b) 配列番号70の塩基213-2585を含む核酸；
- c) 配列番号71の塩基218-2590を含む核酸；
- d) 配列番号72の塩基208-2580を含む核酸；
- e) 配列番号73の塩基149-2521を含む核酸；
- f) 配列番号74の塩基225-2597を含む核酸；
- g) 配列番号27の塩基43907-46279を含む核酸；
- h) 配列番号80の塩基229-2601を含む核酸；
- i) 配列番号81の塩基175-2547を含む核酸；
- j) 配列番号82の塩基227-2599を含む核酸；

k) 配列番号 83 の塩基 220-2592 を含む核酸；

l) 配列番号 84 の塩基 174-2546 を含む核酸；

m) 配列番号 85 の塩基 90-2462 を含む核酸；

n) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも 70% 同一であり、か

5 つ、稔性回復機能を有する核酸；

o) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン ト な 条 件 下 で ハ イ ブ リ ダ イ ズ し、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び

p) 上記 a) - m) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

10

アンチセンスは、少なくとも 100 塩基以上、より好ましくは 500 塩基以上、最も好ましくは 1000 塩基以上の長さである。導入の技術上の簡便性等の観点より、好ましくは 10000 塩基以下、より好ましくは 5000 塩基以下である。アンチセンスは、公知の方法により合成することが可能である。アンチセンスのイネへの導入は公知の方法により、例えば、T e r a d a e t a l . ( P l a n t C e l l P h y s i o l . 2 0 0 0 J u l , 4 1 ( 7 ) , p . 8 8 1 - 8 8 8 ) に記載の方法により行うことが可能である。

15

また、限定されるわけではないが、T o s 1 7 ( H i r o c h i k a H . e t a l . 1 9 9 6 , P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A

20

9 3 , p . 7 7 8 3 - 7 7 8 8 ) などの転移因子の挿入変異系統のなかから、配列番号 27 の塩基配列内に転移因子が挿入された系統を選抜することにより、R f - 1 が破壊された系統を育成することも可能であると考えられる。さらに、植物においても相同組換えにより遺伝子破壊が研究されている。その系の確立により、配列番号 27 の塩基配列を有する核酸、または配列番号 27 の塩基配列と少なくとも 70% 同一である核酸を用いて、R f - 1 遺伝子を変異型 R f - 1 遺伝子に置換することにより、稔性回復機能を抑制することも可能であると考えられる。

25

## 参考文献

1. Fukuta et al. 1992, Jpn J. Breed.  
d. 42 (supl. 1) p. 164-165
2. 特開平7-222588
3. 特開平9-313187
- 5 4. 特開2000-139465
5. Harushima et al. 1998, Genetics  
148 p. 479-494
6. Michaels and Amasino 1998, The  
Plant Journal 14 (3) p. 381-385
- 10 7. Neff et al. 1998, The plant Jou  
rnal 14 (3) p. 387-392
8. D. E. Harry, et al., Theor Appl  
Genet (1998) 97: p. 327-336
9. Hiei et al., Plant Journal (199  
15 4), 6 (2), p. 272-282
10. Komari et al., Plant Journal (19  
96) 10, p. 165-174
11. Ditta et al., Proc. Natl. Acad. Sc  
i. USA (1980), 77: p. 7347-7351
- 20 12. P. Vos, 5, Nucleic Acids Res. Vo  
l. 23, p. 4407-4414 (1995)
13. O. Parnaud, X. 5, Mol. Gen. Genet. (1  
996) 252: p. 597-607
14. A. Konieczny 5, (1993), Plant J. 4  
25 (2) p. 403-410
15. Edwards 5, Nucleic Acids Res. 8  
(6): 1349, 1991
16. Murray M. G. 5, Nucleic Acids Re  
s. 8 (19): 4321-5, 1980

17. Terada et al., Plant Cell Physiology, 2000 Jul, 41 (7), p. 881-888

18. Hirochika H. et al. 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, p. 7783-7788

5 19. Cui, X., Wise, R. P. and Schnable, P. S. (1996) The rf2 nuclear restorer gene of male-sterile T-cytoplasm maize. Science, 272, 1334-1336

10 20. Liu, F., Cui, X., Horner, H. T., Weiner, H. and Schnable, P. S. (2001) Mitochondrial aldehyde dehydrogenase activity is required for male fertility in maize. The Plant Cell, 13, 1063-1078

15

#### 実施例

以下、実施例によって本発明を具体的に説明するが、これらは本発明の技術的範囲を限定するためのものではない。当業者は本明細書の記載に基づいて容易に本発明に修飾・変更を加えることができ、それらは本発明の技術的範囲に含まれる。

20

#### 参考例

以下の参考例は、本出願人の先の特許出願 特願2000-247204 (2000年8月17日出願) に記載された実施例に基づく。

#### 参考例1 Rf-1遺伝子座周辺RFLPマーカーのPCRマーカー化

25 本参考例においては、Rf-1遺伝子座周辺RFLPマーカー9個 (R1877、G291、R2303、S12564、C1361、S10019、G4003、S10602、G2155) をPCRマーカー化した。

#### (1) 材料および方法

R f - 1 遺伝子座周辺 R F L P マーカー 9 個 ( R 1 8 7 7、G 2 9 1、R 2 3  
0 3、S 1 2 5 6 4、C 1 3 6 1、S 1 0 0 1 9、G 4 0 0 3、S 1 0 6 0 2、  
G 2 1 5 5) を農林水産省農業生物資源研究所から購入し、ベクター内の挿入塩  
基配列を決定した後、以下の手順で実験を行った。なお、本文中のイネ品種のう  
ち、あそみのりはジャポニカ米であり、I R 2 4 はインディカ米である。

## (2) ゲノミックライブラリーの作製

あそみのりの緑葉から、C T A B 法により各々トータルDNAを抽出した。M  
b o I で部分消化後、N a C l 密度勾配遠心 ( 6 ~ 2 0 % 直線勾配、2 0 ℃、3  
7 0 0 0 r p m、4 時間、全容量 1 2 m l ) によりサイズ分画を行った。各分画  
10 ( 約 0. 5 m l ) の一部を電気泳動にかけ、1 5 ~ 2 0 k b の DNA を含む分画  
を選抜・精製した。ライブラリーの作製は、L a m b d a D A S H I I  
( S t r a t a g e n e ) をベクターに用いて、付属プロトコールに準拠して行  
った。パッケージングには、G i g a P a c k I I I G o l d ( S t r  
a t a g e n e ) を用いた。パッケージング後、S M B u f f e r 5 0 0  
15  $\mu$  l およびクロロフォルム 2 0  $\mu$  l を添加した。遠心後の上清にクロロフォルム  
2 0  $\mu$  l を添加し、ライブラリー溶液とした。

ライブラリー溶液の 5 0 倍希釈液 5  $\mu$  l を用いて、X L - 1 B l u e M  
R A ( P 2 ) に感染させた。その結果、あそみのりについては 8 3 個のプラーク  
が出現した。ライブラリーあたりでは、 $4. 1 5 \times 1 0^5$  p f u となり、平均挿  
入断片長を 2 0 k b とすると、 $8. 3 \times 1 0^9$  b p をカバーする計算になる。こ  
20 れは、イネゲノム ( $4 \times 1 0^8$  b p ) に対して十分な大きさのライブラリーであ  
ると考えられた。

## (3) R 1 8 7 7、C 1 3 6 1 および G 4 0 0 3 対応ゲノミッククローンの単 離

25 C 1 3 6 1 および G 4 0 0 3 については、R F L P マーカープローブを含むプ  
ラスミドを単離した後、制限酵素処理・電気泳動により、R F L P マーカープロ  
ーブ部分を分離し、DNA 回収フィルター ( T a k a r a S U P R E C - 0  
1 ) を用いて目的の DNA を回収した。R 1 8 7 7 については、マーカープロ  
ーブ両端部に対してプライマーを設計し、あそみのりトータル DNA をテンプレ

トにPCRを行い、産物を電気泳動後、前述の方法で回収した。回収したDNAは、rediprime DNA labelling system (Amersham Pharmacia) を用いてラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブとした。なお、PCRは常法により行った（以下、同様）。

5      ライブラリーのスクリーニングは、プラークをHybond-N+ (Amersham Pharmacia) にプロットした後、常法により行った。1stスクリーニング後、陽性プラーク周辺を打ち抜き、SMバッファーに懸濁し、2ndスクリーニングに供試した。2ndスクリーニング後、陽性プラークを打ち抜き、さらに3rdスクリーニングを行い、単一プラークを分離した。

10      分離した目的プラークをSMバッファーに懸濁後、プレートライセート法によりファージを一次増殖した。得られたファージ増殖液を用いて、振とう培養法により二次増殖を行った後、Lambda starter kit (QIAGEN) を用いてファージDNAを精製した。

15      各マーカーについて、8枚のプレートを用いて1stスクリーニングを行った。プレート1枚につきライブラリー溶液を10 $\mu$ l使用した。3rdスクリーニングまで行った結果、R1877、C1361およびG4003対応ゲノミッククローンを、それぞれ、4個、3個および3個単離した。

#### (4) R1877のPCRマーカー化

20      単離したゲノミッククローンを解析し、RFLPの原因部位、即ち、IR24 (インディカ米) には存在しあそみのり (ジャポニカ米) には存在しないEcoRI部位を同定することにより、PCRマーカー化を行った。

25      具体的には、単離した4クローンについて以下の解析を行った。まず、T3およびT7プライマーを用いて、各クローンの挿入断片の両末端の塩基配列を明らかにした。つぎに、マーカープローブ両端部に対して外向きのプライマーを設計し、T3およびT7プライマーと組み合わせ（合計4プライマー組合せ）、各クローンをテンプレートにPCRを行った。

また、各クローンをNotIおよびEcoRIで消化した後、電気泳動することにより、挿入断片長および各EcoRI断片長を推定した。

これらの解析の結果、各クローンの位置関係を明らかにすることができた。一方、RFLP解析ではマーカープローブR1877により日本晴（ジャポニカ米）では20 kb、Kasalath（インディカ米）では6.4 kbのEcoRI断片が検出されること（ftp://ftp.staff.or.jp/pub/geneticmap98/parentsouthern/chr10/R1877.JPG）ことが知られている。これらの事実を併せ考えることにより、IR24には存在しあそみのりには存在しないEcoRI部位のおおよその位置が推定できた。そこで、その周辺を増幅するように設計したプライマー組み合わせ（配列番号1と配列番号2）を用いて、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて2分を1サイクルとし30サイクルのPCR条件にてゲノミックPCRを行った。得られたPCR産物をEcoRI処理した後、0.7%アガロースゲルで電気泳動した。

その結果、あそみのり-IR24間で期待通りの多型が観察された。すなわち、PCR産物（約3200 bp）のEcoRI処理により、IR24では1500 bpと1700 bpとに切断されるのに対し、あそみのりでは切断されなかった。あそみのり-IR24のRIL（Recombinant Inbred Line）を用いてこのPCRマーカーをマッピングした結果、RFLPマーカー座R1877と同一領域に位置づけられ、RFLPマーカーR1877がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーをR1877EcoRIと命名した。

#### （5）G4003のPCRマーカー化

単離したゲノミッククローンを解析し、RFLPの原因部位、即ち、あそみのりには存在しIR24には存在しないHindIII部位を同定することにより、PCRマーカー化を行った。

R1877と同様の解析を行い、単離した3クローンの位置関係を明らかにした。RFLP解析ではマーカープローブG4003により日本晴（ジャポニカ米）では3 kb、Kasalathでは10 kb（インディカ米）のHindIII断片が検出されること（ftp://ftp.staff.or.jp/pub/geneticmap98/parentsouthern/chr10



／R1877. J P G) ことが知られている。これらの事実を併せ考えることにより、あそみのりには存在し I R 2 4 には存在しない H i n d I I I 部位が、2 個の候補部位のいずれかであると推定された。そこで、各 H i n d I I I 部位周辺を増幅するように設計したプライマー組合せ（配列番号 3 および配列番号 4）を用いて、9 4℃にて 3 0 秒、5 8℃にて 3 0 秒、7 2℃にて 3 0 秒を 1 サイクルとし 3 5 サイクルの条件で、ゲノミック P C R を行った。得られた P C R 産物を H i n d I I I 処理後、2 % アガロースゲルで電気泳動したところ、マーカープローブ内部の H i n d I I I 部位が多型部位であることが示された。すなわち、P C R 産物（3 6 2 b p）の H i n d I I I 処理により、あそみのりでは 9 5 b p と 2 6 7 b p とに切断されるのに対し、I R 2 4 では切断されなかった。マッピングの結果、R F L P マーカー G 4 0 0 3 が P C R マーカーに変換されたことが証明され、このマーカーを G 4 0 0 3 H i n d I I I（配列番号 1 9）と命名した。

#### （6）C 1 3 6 1 の P C R マーカー化

単離したゲノミッククローンの塩基配列情報に基づいてプライマーを設計した。あそみのりおよび I R 2 4 のトータル DNA をテンプレートに P C R を行い、産物を電気泳動後、既述の方法で回収した。回収した DNA をテンプレートに用いて、A B I M o d e l 3 1 0 により各品種の塩基配列を解読し、多型作出に利用可能な変異を探索した。

R 1 8 7 7 と同様の解析を行い、単離した 3 クローンのおおよその位置関係を明らかにすることはできた。しかし、C 1 3 6 1 マーカー周辺には P C R 増幅しにくい領域や塩基配列を解読できない領域が存在することが明らかになり、R F L P 原因部位を同定することは困難であると考えられた。そこで、比較的長い P C R 産物（2. 7 k b）が得られる領域に着目し、d C A P S 化を試みることにした。

具体的には、あそみのり、コシヒカリ（以上、ジャポニカ米）及び K a s a l a t h、I R 2 4（以上、インディカ米）を用いて、前記領域のゲノミック P C R 産物の塩基配列を比較した結果、ジャポニカ米・インディカ米間で多型を示す部位を 6 ヶ所見出すことができた。そのうちのひとつについて、d C A P S 化を

行った。この過程で、プライマーとして配列番号 5 および配列番号 6 を用い、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとし35サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をMwo I 処理後、3%MetaPhor™アガロースで電気泳動することにより解析した。

- 5 あそみのりでは2箇所切断され、約25bp、50bp、79bpのバンドが観察され、IR24では1箇所切断され、約50bp、107bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカーC1361がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーをC1361 Mwo I（配列番号20）と命名した。

10 (7) G2155のPCRマーカー化

マーカープローブ両端部に対してプライマーを設計し、あそみのり、コシヒカリ、IR24およびIL216（戻し交雑によりコシヒカリにRf-1遺伝子を導入した系統、遺伝子型はRf-1/Rf-1）のトータルDNAをテンプレートにPCRを行った。PCR産物の精製および多型作出に利用可能な変異の探索は、既述の方法で行った。

- 15 具体的には、供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、Rf-1遺伝子保有品種系統（IR24およびIL216）とRf-1遺伝子非保有品種系統（あそみのりおよびコシヒカリ）との間の変異が3ヶ所見出された。そのうちのひとつを利用して、dCAPS化を行った。この過程で、プライマーとして配列番号7及び配列番号8を用い、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとし35サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をMwo I 処理後、3%MetaPhor™アガロースで電気泳動することにより解析した。あそみのりでは1箇所切断され、約25bp及び105bpのバンドが観察され、IR24では2箇所切断され、約25bp、27bp及び78bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカーG2155がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーをG2155 Mwo I（配列番号21）と命名した。

25 (8) G291のPCRマーカー化

マーカープローブ内部配列に対してプライマーを設計し、種々のプライマー組合わせでPCRを行い、期待される大きさの増幅産物が得られるプライマー組合わせを探索した。探索により見出したプライマー組合わせで、あそみのり、コシヒカリ、IR24およびIL216のトータルDNAをテンプレートにPCRを行った。PCR産物の精製および多型作出に利用可能な変異の探索は、既述の方法で行った。

具体的には、マーカープローブ配列に対して設計したプライマーを用いて、供試品種のゲノミックPCRを行い、産物の塩基配列を比較した。その結果、Rf-1遺伝子保有品種系統（IR24およびIL216）とRf-1遺伝子非保有品種系統（あそみのりおよびコシヒカリ）との間の変異が4ヶ所見出された。そのうちのひとつを利用して、dCAPS化を行った。この過程で、プライマーとして配列番号9及び配列番号10を用い、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとし35サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をMspI処理後、3%MetaPhor™アガロースで電気泳動することにより解析した。Rf-1遺伝子保有品種系統では2箇所で切断され、約25bp、49bp及び55bpのバンドが観察され、Rf-1遺伝子非保有品種系統では1箇所で切断され、約25bp及び104bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカーG291がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーをG291 MspI（配列番号22）と命名した。

#### （9）R2303のPCRマーカー化

マーカープローブ内部配列に対してプライマーを設計し、あそみのり（ジャポニカ米）、IR24およびKasalath（インディカ米）のトータルDNAをテンプレートにPCRを行った。産物の精製および多型作出に利用可能な変異の探索は、既述の方法で行った。

供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、ジャポニカ米-インディカ米間の変異が見出された。この変異は、BslI認識部位に生じていたので、そのままCAPSマーカーとした。この過程で、プライマーとして配列番号11及び配列番号12を用い、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて2分を1サ

イクルとし30サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をB s l I 処理後、2%アガロースで電気泳動することにより解析した。ジャポニカ米では1箇所切断され、約238bp及び1334bpのバンドが観察され、インディカ米では2箇所切断され、約238bp、655bp及び679bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカース2303がPCRマーカース1I（配列番号23）と命名した。

(10) S10019のPCRマーカース化

10 S10019のPCRマーカース化は、上記R2303のPCRマーカース化の方法(9)にしたがって行った。

具体的には、供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、ジャポニカ米ーインディカ米間の変異が見出された。この変異は、B s t U I 認識部位に生じていたので、そのままCAPSマーカースとした。この過程で、プライマーとして配列番号13及び配列番号14を用い、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて1分を1サイクルとし30サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をB s t U I 処理後、2%アガロースで電気泳動することにより解析した。ジャポニカ米では1箇所切断され、約130bp及び462bpのバンドが観察され、インディカ米では2箇所切断され、約130bp、218bp及び244bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカース1S10019がPCRマーカースに変換されたことが証明され、このマーカースをB s t U I（配列番号24）と命名した。

(11) S10602のPCRマーカース化

S10602のPCRマーカース化は、上記R2303のPCRマーカース化の方法(9)にしたがって行った。

25 具体的には、供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、ジャポニカ米ーインディカ米間の変異が見出された。その変異を利用して、CAPS化を行った。この過程で、プライマーとして配列番号15及び配列番号16を用い、94℃にて1分、58℃にて1分、72℃にて1分を1サイクルとし33サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をK p n I 処理後、2%

アガロースで電気泳動することにより解析した。ジャポニカ米では1箇所切断され、約117bp及び607bpのバンドが観察され、インディカ米では切断されず、724bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカーS10602がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーを

#### (12) S12564のPCRマーカー化

S12564のPCRマーカー化は、R2303のPCRマーカー化の方法にしたがって行った。

具体的には、供試品種の対応領域の塩基配列を比較した結果、ジャポニカ米ーインディカ米間の変異が見出された。その変異を利用して、dCAPS化を行った。この過程で、プライマーとして配列番号17及び配列番号18を用い、94℃にて30秒、58℃にて30秒、72℃にて30秒を1サイクルとし35サイクルのPCR条件にてPCRを行った。得られたPCR産物をTsp509I処理後、3%MetaPhor™アガロースで電気泳動することにより解析した。ジャポニカ米では2箇所切断され、26bp、41bp及び91bpのバンドが観察され、インディカ米では1箇所切断され、41bp及び117bpのバンドが観察された。マッピングの結果、RFLPマーカーS12564がPCRマーカーに変換されたことが証明され、このマーカーをS12564 Tsp509I (配列番号26) と命名した。

#### 参考例2 Rf-1遺伝子座のマッピング

MSコシヒカリにMS-FRコシヒカリの花粉をかけて作成したF1集団1042個体の幼苗からDNAを抽出し、分析に供試した。ここで、MSコシヒカリとは、細胞質をBT型雄性不稔細胞質に置換したコシヒカリである(世代: BC10F1)。また、MS-FRコシヒカリとは、IR8(農業生物資源研究所より入手)に由来するRf-1遺伝子をMSコシヒカリに導入した系統である(Rf-1遺伝子座ヘテロ)。

まず、Rf-1遺伝子座を挟むと考えられる、参考例1に記載の2個のマーカー座R1877 EcoRIおよびG2155 MwoIにおける各個体の遺伝子型を調査した。R1877 EcoRI座またはG2155 MwoI座

に関してジャポニカ米型ホモ個体を、これら2マーカー座間での組換え体とみなした。つぎに、各組換え体について、さらに、G291 MspI座、R2303 BslI座、S12564 Tsp509I座、C1361 MwoI座、S10019 BstUI座、G4003 HindIII座およびS10602 KpnI座の遺伝子型を調査し、組換え位置を同定した。

R1877 EcoRI座およびG2155 MwoI座に関する遺伝子型調査の結果、稔性を回復した46個体がRf-1遺伝子座付近での組換え体であることが明らかになった。これら組換え体について、Rf-1遺伝子座近傍マーカー座の遺伝子型を調査した結果を表3に示す。

10

表3 Rf-1 座近傍組換え個体のマーカー座遺伝子型

Locus	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
R1877 EcoRI	J	J	J	J	J	J	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
G291 MspI	H	J	J	J	J	J	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
R2303 BslI	H	H	J	J	J	J	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S12564 Tsp509I	H	H	H	H	H	H	H	J	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
C1361 MwoI	H	H	H	H	H	H	H	H	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
S10019 BstUI	H	H	H	H	H	H	H	H	J	J	J	J	J	J	J	J	H	H	H	H	H	H	H
G4003 HindIII	H	H	H	H	H	H	H	H	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J
S10602 KpnI	H	H	H	H	H	H	H	H	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J
G2155 MwoI	H	H	H	H	H	H	H	H	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J

24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46
H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	H	H
J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J

J コシヒカリ型ホモ

H コシヒカリ型/MS-FRコシヒカリ型ヘテロ

表3に示されたように、S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I マーカーがジャポニカ型である個体8と、C 1 3 6 1 M w o I 座マーカーがジャポニカ型である個体9および個体10が得られた。いずれも稔性を回復した個体であることから、前者はR f - 1 座とS 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座との間での組換え個体、R f - 1 座とC 1 3 6 1 M w o I 座との間での組換え個体と解し、R f - 1 遺伝子はS 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座とC 1 3 6 1 M w o I 座との間に存在することが判明した。上記交配において、B T 型雄性不稔細胞質を持つ個体では、R f - 1 遺伝子をもつ花粉のみが受精能力を持つとの報告 (C. S h i n j y o, J A P A N. J. G E N E T I C S V o l. 4 4, N o. 3 : 1 4 9 - 1 5 6 ( 1 9 6 9 ) ) に基づいて、R f - 1 遺伝子座を詳細連鎖地図上に位置づけることができた (図4)

#### 実施例1 R f - 1 座極近傍組換え個体の獲得

##### (材料および方法)

MSコシヒカリ (世代: B C 1 0 F 1) にMS-FRコシヒカリ (世代: B C 9 F 1、R f - 1 座ヘテロ) の花粉をかけて作成したB C 1 0 F 1 集団4 1 0 3 個体を用い、各固体からDNAを抽出し、上記参考例2と同様に、S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座およびC 1 3 6 1 M w o I 座の遺伝子型を調査した。S 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座の遺伝子型がコシヒカリ型ホモ個体を、R f - 1 座とS 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座との間での組換えにより生じた個体とみなし、C 1 3 6 1 M w o I 座の遺伝子型がコシヒカリ型ホモ個体を、R f - 1 座とC 1 3 6 1 M w o I 座との間での組換えにより生じた個体とみなした。

##### (結果および考察)

4 1 0 3 個体を調査した結果、R f - 1 座とS 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座との間での組換え個体を1個体、R f - 1 座とC 1 3 6 1 M w o I 座との間での組換え個体を6個体見出した。一方、上記参考例2において交配により得られた1 0 4 2 個体を調査した結果、表3に示したように、R f - 1 座とS 1 2 5 6 4 T s p 5 0 9 I 座との間での組換え個体を1個体、R f - 1 座とC 1 3 6 1 M w o I 座との間での組換え個体を2個体見出している。

合計すると、5145個体から、Rf-1座とS12564 Tsp509I座との間での組換え個体を2個体、Rf-1座とC1361 MwoI座との間での組換え個体を8個体獲得できたことになる。これら10個体を以下の実施例における高精度分離分析に供試することにした。

## 5 実施例2 染色体歩行

### (1) 1回目染色体歩行

#### (材料および方法)

ジャポニカ品種あそみのり (Rf-1非保有品種) のゲノムDNAを用いて、参考例1に記載したようにLambda DASH IIベクターによりゲノミックライブラリーを作成し、染色体歩行に供試した。

RFLPプローブ S12564の部分塩基配列 (アクセッション番号D47284) に対して次のプライマー対:

5' -atcaggagccttcaaattgggaac-3' (配列番号29) および

5' -ctcgcaaattgcttaattttgacc-3' (配列番号30)

を設計し、あそみのりトータルDNAをテンプレートに用いて、定法に従いPCRを行った。得られた約1200bpの増幅産物を、アガロースゲルでの電気泳動後、QIAEXII (QIAGEN社) を用いて精製した。精製したDNAは、rediprime DNA labelling system (Amersham Pharmacia社) を用いてラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブ (プローブA、図1) とした。

ライブラリーのスクリーニングは、ブランクをHybond-N<sup>+</sup> (Amersham Pharmacia社) にプロットした後、常法により行った。単一ブランクを分離した後、Lambda Midi kit (QIAGEN社) を用いてプレートライセート法によりファージDNAを精製した。

### 25 (結果および考察)

スクリーニングにより4個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ (WSA1およびWSA3) は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、WSA1



およびWSA3に対応するあそみのりゲノム塩基配列を決定した（DNAシーケンサー377、ABI社）。

（2）2回目染色体歩行

（材料および方法）

- 5 既述のあそみのりゲノミックライブラリーに加え、インディカ品種IR24（Rf-1保有品種）のゲノムDNAから同様に作成したIR24ゲノミックライブラリーを、染色体歩行に供試した。

（1）で明らかにしたあそみのりゲノム塩基配列に対して次のプライマー対：

- 5' - tgaaggagttatgggtgcgtgacg - 3' （配列番号31）および  
10 5' - ttgccgagcacacttgccatgtgc - 3' （配列番号32）

を設計し、WSA3のDNAをテンプレートに用いて、定法に従いPCRを行った。得られた524bpの増幅産物を、既述の方法で精製・ラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブ（プローブE、図1）とした。

- 15 ライブラリーのスクリーニングおよびファージDNAの精製は、既述の方法で行った。

（結果および考察）

- あそみのりゲノミックライブラリースクリーニングにより15個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのひとつ（WSE8）は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー  
20 歩行により、WSE8に対応するあそみのりゲノム塩基配列を決定した。

- IR24ゲノミックライブラリースクリーニングにより7個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ（XSE1およびXSE7）は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、XSE1およびXSE7に対応するIR24ゲノム塩基  
25 配列を決定した。

（3）3回目染色体歩行

（材料および方法）

既述のあそみのりゲノミックライブラリーおよびIR24ゲノミックライブラリーを、染色体歩行に供試した。

(2) で明らかにしたあそみのりゲノム塩基配列に対して次のプライマー対：

5' - gcgacgcaatggacatagtgctcc - 3' (配列番号 33) および

5' - ttacctgcccaagcaataatccatcg - 3' (配列番号 34)

を設計し、WSE 8 の DNA をテンプレートに用いて、定法に従い PCR を行った。得られた 1159 bp の増幅産物を、既述の方法で精製・ラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブ (プローブ F、図 1) とした。

ライブラリーのスクリーニングおよびファージ DNA の精製は、既述の方法で行った。

(結果および考察)

10 あそみのりゲノミックライブラリースクリーニングにより 8 個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ (WSF 5 および WSF 7) は図 1 に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、WSF 5 および WSF 7 に対応するあそみのりゲノム塩基配列を決定した。

15 IR 24 ゲノミックライブラリースクリーニングにより 13 個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ (XSF 4 および XSF 20) は図 1 に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、XSF 4 および XSF 20 に対応する IR 24 ゲノム塩基配列を決定した。

20 (4) 4 回目染色体歩行

(材料および方法)

既述のあそみのりゲノミックライブラリーおよび IR 24 ゲノミックライブラリーを、染色体歩行に供試した。

(3) で明らかにしたあそみのりゲノム塩基配列に対してプライマー対：

25 5' - aaggcatactcagtgaggaggcaag - 3' (配列番号 35) および

5' - ttaacctgaccgcaagcacctgtc - 3' (配列番号 36)

を設計し、WSF 7 の DNA をテンプレートに用いて、定法に従い PCR を行った。得られた 456 bp の増幅産物を、既述の方法で精製・ラベルし、ライブラリースクリーニング用プローブ (プローブ G、図 1) とした。

ライブラリーのスクリーニングおよびファージDNAの精製は、既述の方法で行った。

(結果および考察)

5 あそみのりゲノミックライブラリースクリーニングにより6個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのふたつ(WSG2およびWSG6)は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、WSG2およびWSG6に対応するあそみのりゲノム塩基配列を決定した。

10 IR24ゲノミックライブラリースクリーニングにより14個のクローンが得られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちの3クローン(XSG8、XSG16およびXSG22)は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー歩行により、XSG8、XSG16およびXSG22に対応するIR24ゲノム塩基配列を決定した。

(5) 5回目染色体歩行

15 (材料および方法)

既述のIR24ゲノミックライブラリーを、染色体歩行に供試した。

本発明者らは、TIGR(The Institute for Genomic Research)の公開ホームページを閲覧し、RFLPマーカース12564を包含するBAC(Bacterial Artificial Chromosome)クローン(アクセッション番号AC068923)が公開データベース(GenBank)に登録されていることを見出した。このBACクローンは、ジャポニカ品種日本晴のゲノムDNAを含むものであり、塩基配列を比較したところ、(1) - (4)で作成したあそみのりおよびIR24のコンテ

20 イグ領域を完全に包含することが示された(図2)。

25 そこで、このBACクローンの一部を増幅する次のプライマー対:

5' - tggatggactatgtggggtcagtc - 3' (配列番号37) および

5' - agtgggaagtggagagagtagggag - 3' (配列番号38)

を設計し、I R 2 4 トータルDNAをテンプレートに用いて、定法に従いP C R  
を行った。得られた約600bpの増幅産物を、既述の方法で精製・ラベルし、  
ライブラリースクリーニング用プローブ（プローブH、図1）とした。

ライブラリーのスクリーニングおよびファージDNAの精製は、既述の方法で  
5 行った。

（結果および考察）

I R 2 4 ゲノミクライブラリースクリーニングにより15個のクローンが得  
られ、末端塩基配列の解析および制限酵素断片長解析の結果から、そのうちのひ  
とつ（X S H 1 8）は図1に示した位置関係にあることが示された。プライマー  
10 歩行により、X S H 1 8に対応するI R 2 4 ゲノム塩基配列を決定した。

### 実施例3 高精度分離分析

（1）P C R マーカ P 4 4 9 7 M b o I の開発

実施例2で明らかにしたI R 2 4 コンティグに対応するゲノム塩基配列（配列  
15 番号27）とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号28）  
とを比較した結果、配列番号27の1239番目の塩基がAであるのに対し、当  
該位置に対応する配列番号28の12631番目の塩基はGであることを見出し  
た。

この差異の検出には、先ず次のプライマー対：

20 P 4 4 9 7 M b o I F :

5' - ccc tccaacacataaaatgg ttgag - 3' （配列番号39）

（配列番号27の塩基853 - 876に相当）

（配列番号28の塩基12247 - 12270に相当）

および

25 P 4 4 9 7 M b o I R :

5' - ttt ctgccaggaaactgt tagatg - 3' （配列番号40）

（配列番号27の塩基1583 - 1560に相当）

（配列番号28の塩基12975 - 12952に相当）

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い約730bpの断片を増幅する。増幅産物をMboI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、IR24DNAからの増幅産物はMboIの認識配列(GATC)をもたず、MboI処理により切断されないのに対し、あそみのりDNAからの増幅産物はMboIの認識配列をもち、MboI処理により切断されるため、MboI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

## (2) PCRマーカーP9493 BslIの開発

実施例2で明らかにしたIR24コンティグに対応するゲノム塩基配列(配列番号27)とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列(配列番号28)とを比較した結果、配列番号27の6227番目の塩基がAであるのに対し、当該位置に対応する配列番号28の17627番目の塩基はCであることを見出した。

この差異の検出には、先ず次のプライマー対：

15 P9493 BslI F：

5' -gcgatcttatacgcatactatgcg-3' (配列番号41)

(配列番号27の塩基6129-6152に相当)

(配列番号28の塩基17529-17552に相当)

および

20 P9493 BslI R：

5' -aaagtctttgttccttcaccaagg-3' (配列番号42)

(配列番号27の塩基6254-6231に相当)

(配列番号28の塩基17654-17631に相当)

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い126bpの断片を増幅する。増幅産物をBslI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、IR24DNAからの増幅産物はBslIの認識配列(CNNNNNNNGG)をもたず、BslI処理により切断されないのに対し、あそみのりDNAからの増幅産物はBslIの認識配列をもち、BslI処

理により切断されるため、B s l I 処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

なお、本マーカの開発には、dCAPS法 (Michaels and Amasino 1998, Neff et al 1998) を適用した。具体的には、前記P 9 4 9 3 B s l I Rプライマーの使用により、配列番号27の6 2 3 6および配列番号28の1 7 6 3 6のaがgに置換される。これにより、あそみのりDNA由来の断片は、配列番号28の1 7 6 2 6 - 1 7 6 3 6の部分の配列がC C t t t c c t t G Gとなり、B s l I 処理により切断される。

### (3) PCRマーカP 2 3 9 4 5 M b o I の開発

10 実施例2で明らかにしたI R 2 4コンティグに対応するゲノム塩基配列 (配列番号27) とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列 (配列番号28) とを比較した結果、配列番号27の2 0 6 8 0番目の塩基がGであるのに対し、当該位置に対応する配列番号28の3 2 0 7 9番目の塩基はAであることを見出した。

15 この差異の検出には、先ず次のプライマー対：

P 2 3 9 4 5 M b o I F :

5' -gaggatttatcaaaacaggatggacg- 3' (配列番号43)

(配列番号27の塩基2 0 5 1 9 - 2 0 5 4 4に相当)

(配列番号28の塩基3 1 9 1 8 - 3 1 9 4 3に相当)

20 および

P 2 3 9 4 5 M b o I R :

5' -tgggcggcagcagtgaggataga- 3' (配列番号44)

(配列番号27の塩基2 0 7 7 8 - 2 0 7 5 5に相当)

(配列番号28の塩基3 2 1 7 7 - 3 2 1 5 4に相当)

25 を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い260bpの断片を増幅する。増幅産物をM b o I 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、I R 2 4 DNAからの増幅産物はM b o I の認識配列

(G A T C) をもち、M b o I 処理により切断されるのに対し、あそみのりDNAからの増幅産物はM b o I の認識配列をもたず、M b o I 処理により切断され

ないため、Mbo I 処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

(4) PCRマーカーP41030 Taq Iの開発

5 実施例2で明らかにしたIR24コンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号27）とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号28）とを比較した結果、配列番号27の45461番目の塩基がAであるのに対し、当該位置に対応する配列番号28の49164番目の塩基はGであることを見出した。

この差異の検出には、先ず次のプライマー対：

10 P41030 Taq I F：

5' -aagaaggagggttatagaatctg-3' (配列番号45)

(配列番号27の塩基45369-45392に相当)

(配列番号28の塩基49072-49095に相当)

および

15 P41030 Taq I R：

5' -atatcaggactaacaccactgctc-3' (配列番号46)

(配列番号27の塩基45648-45625に相当)

(配列番号28の塩基49351-49328に相当)

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い280bpの断片を増幅する。増幅産物  
20 物をTaq I 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、IR24DNAからの増幅産物はTaq I の認識配列（TCGA）をもたず、Taq I 処理により切断されないのに対し、あそみのりDNAからの増幅産物はTaq I の認識配列をもち、Taq I 処理により切断されるため、Taq I 処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の  
25 差異として検出することができる。

(5) PCRマーカーP45177 Bst UIの開発

実施例2で明らかにしたIR24コンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号27）とあそみのりコンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号28）とを比較した結果、配列番号27の49609番目の塩基がAであるのに対し、

当該位置に対応する配列番号 28 の 53311 番目の塩基は G であることを見出した。

この差異の検出には、先ず次のプライマー対：

P 4 5 1 7 7 B s t U I F :

- 5 5' - acgagtagtagcgatcttccagcg - 3' (配列番号 47)  
 (配列番号 27 の塩基 49355 - 49378 に相当)  
 (配列番号 28 の塩基 53057 - 53080 に相当)

および

P 4 5 1 7 7 B s t U I R :

- 10 5' - cagcgtgaaactaaaaacggaggc - 3' (配列番号 48)  
 (配列番号 27 の塩基 50166 - 50143 に相当)  
 (配列番号 28 の塩基 53868 - 53845 に相当)

を用いて当該部位周辺の PCR 増幅を行い 812 bp の断片を増幅する。増幅産物を B s t U I 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、I R 24 DNA からの増幅産物は B s t U I の認識配列 (C G C G) を 2 箇所もち、B s t U I 処理により 3 個の断片に切断されるの  
 15 に対し、あそみのり DNA からの増幅産物は B s t U I の認識配列を 3 箇所もち、B s t U I 処理により 4 個の断片に切断されるため、B s t U I 処理後の DNA 鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができ  
 20 る。

(6) PCR マーカー B 6 0 3 0 4 M s p I の開発

実施例 2 で明らかにした I R 24 コンティグに対応するゲノム塩基配列 (配列番号 27) と既述の B A C クローン (アクセッション番号 A C 0 6 8 9 2 3) の塩基配列とを比較した結果、配列番号 27 の 56368 番目の塩基が T であるの  
 25 に対し、当該位置に対応する A C 0 6 8 9 2 3 の塩基は C であることを見出した。

この差異の検出は、先ず次のプライマー対：

B 6 0 3 0 4 M s p I F :

- 5' - atcccacatcatcataatccgacc - 3' (配列番号 49)



(配列番号 27 の塩基 56149-56172 に相当)

および

B60304 MspI R:

5' - agcttctcccttggatcacggtggcg - 3' (配列番号 50)

5 (配列番号 27 の塩基 56479-56455 に相当)

を用いて当該部位周辺の PCR 増幅を行い約 330 bp の断片を増幅する。増幅産物を MspI 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、IR24 DNA からの増幅産物は MspI の認識配列 (CCGG) をもたず、MspI 処理により切断されないのに対し、日本晴 DNA からの増幅産物は MspI の認識配列をもち、MspI 処理により切断されるため、MspI 処理後の DNA 鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

なお、本マーカーの開発には、dCAPS 法を適用した。具体的には、B60304 MspI R プライマーの使用により、配列番号 27 の 56463 の g が t に置換される。これにより、配列番号 27 の 56460-56463 の MspI の認識配列 CCGG が ccgt となり、MspI によって切断されなくなる。よって、IR24 由来の断片は MspI の認識配列を一つも有さず、一方、日本晴由来の DNA は、配列番号 27 の 56367-56370 に対応する領域に 1 箇所 MspI の認識配列を有することとなる。

20 (7) PCR マーカー B59066 BsaJI の開発

実施例 2 で明らかにした IR24 コンティグに対応するゲノム塩基配列 (配列番号 27) と既述の BAC クローン (アクセッション番号 AC068923) の塩基配列とを比較した結果、配列番号 27 の 57629 番目の塩基が C であるのに対し、当該位置に対応する AC068923 の塩基は CC であることを見出した。

この差異の検出は、先ず次のプライマー対:

B59066 BsaJI F:

5' - atttgttggtagttgcggctgag - 3' (配列番号 51)

(配列番号 27 の塩基 57563-57586 に相当)

および

B 5 9 0 6 6   B s a J I   R :

5' - g c c c a a a c t c a a a a g g a g a g a a c c - 3'      (配列番号 5 2)

(配列番号 2 7 の塩基 5 7 9 8 3 - 5 7 9 6 0 に相当)

- 5      を用いて当該部位周辺の P C R 増幅を行い約 4 2 0 b p の断片を増幅する。増幅産物を B s a J I 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、I R 2 4 D N A からの増幅産物は B s a J I の認識配列 (C C N N G G) をもたず、B s a J I 処理により切断されないのに対し、日本晴 D N A からの増幅産物は B s a J I の認識配列をもち、B s a J I 処理により切断されるため、B s a J I 処理後の D N A 鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

(8) P C R マーカー B 5 6 6 9 1   X b a I の開発

- 15      実施例 2 で明らかにした I R 2 4 コンティグに対応するゲノム塩基配列 (配列番号 2 7) と既述の B A C クローン (アクセッション番号 A C 0 6 8 9 2 3) の塩基配列とを比較した結果、配列番号 2 7 の 6 6 2 6 7 番目の塩基が G であるのに対し、当該位置に対応する A C 0 6 8 9 2 3 の塩基は C であることを見出した。

この差異の検出は、先ず次のプライマー対:

B 5 6 6 9 1   X b a I   F :

- 20      5' - c c t c a a g t c t c c c c t a a a g c c a c t - 3'      (配列番号 5 3)

(配列番号 2 7 の塩基 6 6 1 2 9 - 6 6 1 5 2 に相当)

および

B 5 6 6 9 1   X b a I   R :

5' - g c t c t a c t g c t g a t a a a c c g t g a g - 3'      (配列番号 5 4)

- 25      (配列番号 2 7 の塩基 6 6 7 9 9 - 6 6 7 7 6 に相当)

を用いて当該部位周辺の P C R 増幅を行い約 6 7 0 b p の断片を増幅する。増幅産物を X b a I 処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、I R 2 4 D N A からの増幅産物は X b a I の認識配列 (T C T A G A) をもたず、X b a I 処理により切断されないのに対し、日本晴

DNAからの増幅産物はXbaIの認識配列をもち、XbaI処理により切断されるため、XbaI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

(9) PCRマーカーB53627 BstZ17Iの開発

- 5 実施例2で明らかにしたIR24コンティグに対応するゲノム塩基配列（配列番号27）と既述のBACクローン（アクセッション番号AC068923）の塩基配列とを比較した結果、配列番号27の69331番目の塩基がTであるのに対し、当該位置に対応するAC068923の塩基はCであることを見出した。

- 10 この差異の検出は、先ず次のプライマー対：

B53627 BstZ17I F：

5' - tggatggactatgtggggcagtc - 3' （配列番号55）

（配列番号27の塩基68965 - 68988に相当）

および

- 15 B53627 BstZ17I R：

5' - agtgggaagtggagagagtagggag - 3' （配列番号56）

（配列番号27の塩基69582 - 69559に相当）

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い約620bpの断片を増幅する。

- 20 増幅産物をBstZ17I処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、IR24DNAからの増幅産物はBstZ17Iの認識配列（GTATAC）をもち、XbaI処理により切断されるのに対し、日本晴DNAからの増幅産物はBstZ17Iの認識配列をもたず、BstZ17I処理により切断されないため、BstZ17I処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

- 25 (10) PCRマーカーB40936 MseIの開発

以下の(10) - (12)のPCRマーカーの開発はいずれも、配列番号27の3'末端76363よりもさらに下流（3'末端）側に相当する塩基配列についての研究に関する。

既述のBACクローン（アクセッション番号AC068923）の塩基配列に対して、次のプライマー対：

5' - tacgacgccatttcactccattgc - 3' （配列番号57）

および

5 5' - catttctctatgggcgttgctctg - 3' （配列番号58）

を設計した。このプライマー対を用いて、MS-FRコシヒカリ（Rf-1座の遺伝子型はRf-1 Rf-1）およびコシヒカリのトータルDNAをテンプレートに、定法に従いPCRを行った。得られた約1300bpの増幅産物を、アガロースゲルでの電気泳動後、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。精製したDNAの塩基配列を、DNAシーケンサー377（ABI社）により解析した結果、数箇所において多型を見出すことができた。

そのひとつは、次のプライマー対：

B40936 MseI F：

5' - acctgtaggtatggcaccttcaacac - 3' （配列番号59）

15 および

B40936 MseI R：

5' - ccaaggaacgaagtccaatgtatgg - 3' （配列番号60）

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い、増幅産物をMseI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、MS-FRコシヒカリ（Rf-1 Rf-1）DNAからの増幅産物はMseIの認識配列（TTAA）をもち、MseI処理により切断されるのに対し、コシヒカリDNAからの増幅産物はMseIの認識配列をもたず、MseI処理により切断されないため、MseI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

25 なお、本マーカーの開発には、dCAPS法を適用した。

（11）PCRマーカーB19839 MwoIの開発

既述のBACクローン（アクセッション番号AC068923）の塩基配列に対して、次のプライマー対：

5' - tgatgtgtttgggcattcccttgcg - 3' （配列番号61）

および

5' -gagataggggacgacagacacgac-3' (配列番号62)

を設計した。このプライマー対を用いて、MS-FRコシヒカリ (Rf-1 Rf-1) およびコシヒカリのトータルDNAをテンプレートに、定法に従いPCRを行った。得られた約1200bpの増幅産物を、アガロースゲルでの電気泳動後、QIAEXII (QIAGEN社) を用いて精製した。精製したDNAの塩基配列を、DNAシーケンサー377 (ABI社) により解析した結果、数箇所において多型を見出すことができた。

そのひとつは、次のプライマー対：

10 B19839 MwoI F：

5' -tcctatggctgtttagaaactgcaca-3' (配列番号63)

および

B19839 MwoI R：

5' -caagttcaaacataactggcggttg-3' (配列番号64)

15 を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い、増幅産物をMwoI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、MS-FRコシヒカリ (Rf-1 Rf-1) DNAからの増幅産物はMwoIの認識配列 (GCNNNNNNNGC) をもたず、MwoI処理により切断されないのに対し、コシヒカリDNAからの増幅産物はMwoIの認識配列をもち、MwoI処理により切断されるため、MwoI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

なお、本マーカーの開発には、dCAPS法を適用した。

(12) PCRマーカーB2387 BfaI の開発

既述のBACクローン (アクセッション番号AC068923) の塩基配列に

25 対して、次のプライマー対：

5' -cacgtgccgtgaagtgtgctgtgc-3' (配列番号65)

および

5' -caagcgtgtgataaaaatgtgacgc-3' (配列番号66)

を設計した。このプライマー対を用いて、MS-FRコシヒカリ (R f - 1 R f - 1) およびコシヒカリのトータルDNAをテンプレートに、定法に従いPCRを行った。得られた約1300bpの増幅産物を、アガロースゲルでの電気泳動後、QIAEXII (QIAGEN社) を用いて精製した。精製したDNAの塩基配列を、DNAシーケンサー377 (ABI社) により解析した結果、数個所において多型を見出すことができた。

そのひとつは、次のプライマー対：

B2387 BfaI F：

5' - tgcctactgccattactatgtgac - 3' (配列番号67)

10 および

B2387 BfaI R：

5' - acatactaccgtaaatgggtctctg - 3' (配列番号68)

を用いて当該部位周辺のPCR増幅を行い、増幅産物をBfaI処理後、アガロースゲルで電気泳動することにより、可視化することができる。すなわち、MS-FRコシヒカリ (R f - 1 R f - 1) DNAからの増幅産物はBfaIの認識配列 (CTAG) をもたず、BfaI処理により切断されないのに対し、コシヒカリDNAからの増幅産物はBfaIの認識配列をもち、BfaI処理により切断されるため、BfaI処理後のDNA鎖長が異なり、アガロースゲル中の移動度の差異として検出することができる。

20 (13) 分離分析

実施例1で得られた、R f - 1座とS12564 Tsp509I座との間での組換え個体2個体 (RS1およびRS2) およびR f - 1座とC1361 MwoI座との間での組換え個体8個体 (RC1からRC8) について、上記

(1) ないし (12) で開発した12個のDNAマーカー座の遺伝子型を調査した。結果を、各個体のS12564 Tsp509I座およびC1361 MwoI座の遺伝子型とともに表4に示した。

表 4 *Rf-1* 座極近傍組換え個体のマーカー座遺伝子型

Locus	RS1	RS2	RC1	RC2	RC3	RC4	RC5	RC6	RC7	RC8
S12564 Tsp509I	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H
P4497 MboI	J	J	H	H	H	H	H	H	H	H
P9493 BslI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
P23945 MboI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
P41030 TaqI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
P45177 BstUI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
B60304 MspI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
B59066 BsaJI	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
B56691 XbaI	H	H	H	H	H	H	H	J	H	H
B53627 BstZ17I	H	H	H	H	H	H	H	J	H	H
B40936 MseI	H	H	H	H	H	H	H	J	H	H
B19839 MwoI	H	H	H	H	H	J	H	J	H	H
B2387 BfaI	H	H	H	H	H	J	H	J	H	J
C1361 MwoI	H	H	J	J	J	J	J	J	J	J

J コシヒカリ型ホモ  
H コシヒカリ型/MS-FRコシヒカリ型ヘテロ

表 4 は、いずれの個体も P 9 4 9 3 B s l I ないし 5 9 0 6 6 B s a J I の間については、インディカ型品種由来の *Rf-1* 染色体領域を有することを示す。この結果から、図 3 で示したような染色体構成をもつ組換え型花粉において、花粉の受精能力があること、すなわち、*Rf-1* 遺伝子が機能していることが示された。これは、これらの組換え型花粉が共有するインディカ型領域、すなわち、最大限に見積もっても P 4 4 9 7 M b o I 座から B 5 6 6 9 1 X b a I 座までの領域（約 6 5 k b）に、*Rf-1* 遺伝子の機能の有無を決定する配列が含まれることを意味する。

ただし、*Rf-1* 遺伝子の一部の遺伝子型がインディカ型であることが、*Rf-1* 遺伝子の遺伝子機能発現に重要であり、残りの部分はジャポニカ型でもインディカ型でも遺伝子機能に大きな差異を生じない可能性がある。よって、上記共有インディカ型領域（配列番号 2 7 の塩基 1 2 3 9 ないし 6 6 2 6 7）が *Rf-1* 遺伝子全体を完全に包含するとは、断定できない。しかしながら、以下の理由、

1) 遺伝子の大きさは通常数 k b であり 1 0 k b を超えることは稀である；

2) 本発明で明らかにした I R 2 4 のゲノム塩基配列 (配列番号 2 7) は、上記共有インディカ型領域を完全に包含する；

3) 配列番号 2 7 の 5' 末端は、上記共有インディカ型領域の 5' 末端から 1 2 3 8 b p 上流に位置し、別の遺伝子 (S 1 2 5 6 4) の一部である；および

5 4) 配列番号 2 7 の 3' 末端は、上記共有インディカ型領域の 3' 末端から 1 0 0 9 6 b p 下流に位置する

により、少なくとも配列番号 2 7 は R f - 1 遺伝子全体を完全に包含すると考えられる。

#### 実施例 4 X S E 1 由来の 9. 7 k b 断片に関する相補性試験

##### (材料および方法)

10 λファージクローン X S E 1 (図 1 および 5) を N o t I で完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された 9. 7 k b の断片 (配列番号 2 7 の塩基 1 - 9 6 5 7 を含む) を、Q I A E X I I (Q I A G E N 社) を用いて精製した。

15 一方、p S B 1 1 (K o m a r i ら、上述) を基に、ハイグロマイシン耐性遺伝子カセットを持つ中間ベクター p S B 2 0 0 を作成した。具体的には、まず、ユビキチンプロモーターとユビキチンイントロン (P u b i - u b i I) に、ノパリン合成酵素のターミネーター (T n o s) を接続した。これより得られた P u b i - u b i I - T n o s 接続体の u b i I - T n o s 間に、ハイグロマイシン体制遺伝子 (H Y G (R)) を挿入することにより、P u b i - u b i I - H Y G (R) - T n o s からなる接続体を得た。この接続体を、p S B 1 1 の H i n d I I I / E c o R I 断片に接続することにより、p K Y 2 0 5 を得た。この p K Y 2 0 5 の P u b i 上流に存在する H i n d I I I 部位に N o t I、N s p V、E c o R V、K p n I、S a c I、E c o R I の制限酵素部位を追加するためのリンカー部位を挿入することにより、ハイグロマイシン耐性遺伝子カセットを有する p S B 2 0 0 を得た。

25 上記プラスミドベクター p S B 2 0 0 を N o t I で完全消化後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を T E 溶液に溶解後、C I A P (T A K A R A 社) により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動



にかけた後、Q I A E X I I (Q I A G E N社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

上記により準備した、X S E 1 由来の 9. 7 k b 断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA L i g a t i o n K i t V e r. 1 (TAKA  
5 RA社) を用いてライゲーション反応を行った。反応後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAを純水 (M i l l i p o r e 社製装置により作成) に溶解後、大腸菌DH5  $\alpha$  と混合し、エレクトロポレーションに供試した。エレクトロポレーション後の溶液を、LB培地で振盪培養 (37°C、1時間) した後、スペクチノマイシンを含むLBプレートに広げ、加温 (37°C、  
10 16時間) した。生じたコロニーのなかの24個についてプラスミドを単離した。その制限酵素断片長パターンおよび境界部塩基配列を調査することにより、組換えプラスミドにより形質転換された所望の大腸菌を選抜した。

上記により選抜した大腸菌を、A g r o b a c t e r i u m t u m e f a c i e n s 菌株L B A 4 4 0 4 / p S B 1 (K o m a r i e t a l, 1996) およびヘルパー大腸菌H B 1 0 1 / p R K 2 0 1 3 (D i t t a e t a l, 1980) とともに供試して、D i t t a e t a l (1980) の方法に従い、三菌系交雑 (t r i p a r e n t i a l m a t i n g) を行った。スペクチノマイシンを含むABプレートに生じたコロニーのなかの6個について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長パターンを調査することにより、所  
20 望のアグロバクテリウムを選抜した。

上記により選抜したアグロバクテリウムを用いて、H i e i e t a l (1994) の方法に準拠し、MSコシヒカリ (BT細胞質を持ち、核遺伝子はコシヒカリとほぼ同一) の形質転換を行った。形質転換に必要なMSコシヒカリの未熟種子は、MSコシヒカリにコシヒカリの花粉をかけることにより作成し  
25 た。

形質転換植物は、馴化後、長日条件の温室に移した。移植適期まで育成した後、48個体の植物を、1 / 5 0 0 0 アールのワグネルポットに移植し (4個体 / ポット)、移植3~4週間後に短日条件の温室に移した。出穂約1か月後に、種子稔性を立毛調査した。

(結果および考察)

形質転換植物 48 個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した 9.7 kb 断片は、少なくとも完全長の Rf-1 遺伝子を包含していないと考えられた。

5 実施例 5 XSE7 由来の 14.7 kb 断片に関する相補性試験

(材料および方法)

10 λファージクローン XSE7 (図 1 および 5) を EcoRI で完全消化後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を TE 溶液に溶解後、DNA Blunting Kit (TAKARA 社) により平滑化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけ、分離された 14.7 kb の断片 (配列番号 27 の塩基 2618-17261 を含む) を、QIAEXII (QIAGEN 社) を用いて精製した。

15 一方、プラスミドベクター pSB200 を SacI で完全消化後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を TE 溶液に溶解後、CIAP (TAKARA 社) により脱リン酸化し、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を TE 溶液に溶解後、DNA Blunting Kit (TAKARA 社) により平滑化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII (QIAGEN 社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

20 上記により準備した、XSE7 由来の 14.7 kb 断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1 (TAKARA 社) を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例 4 に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

(結果および考察)

25 形質転換植物 48 個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した 14.7 kb 断片は、少なくとも完全長の Rf-1 遺伝子を包含していないと考えられた。

実施例 6 XSF4 由来の 21.3 kb 断片に関する相補性試験

(材料および方法)

λファージクローンXSF4（図1および5）をNotIで部分消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された21.3kbの断片（配列番号27の塩基12478-33750を含む）を、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。

- 5 一方、プラスミドベクターpSB200をNotIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP（TAKARA社）により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII（QIAGEN社）を用いてゲルからベクター断片を精製した。
- 10 上記により準備した、XSF4由来の21.3kbの断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1（TAKARA社）を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

（結果および考察）

- 15 形質転換植物48個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した21.3kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

#### 実施例7 XSF20由来の13.2kb断片に関する相補性試験

（材料および方法）

- 20 λファージクローンXSF20（図1及び5）をSalIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、DNA Blunting Kit（TAKARA社）により平滑化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけ、分離された13.2kbの断片（配列番号2の塩基26809-40055を含む）を、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。
- 25

一方、プラスミドベクターpSB200をEcoRVで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP（TAKARA社）により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気

泳動にかけた後、Q I A E X I I (Q I A G E N社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

上記により準備した、X S F 2 0 由来の 1 3 . 2 k b の断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA L i g a t i o n K i t V e r . 1 (T A K A R A 社) を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例 4 に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

(結果および考察)

形質転換植物 4 4 個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した 1 3 . 2 k b 断片は、少なくとも完全長の R f - 1 遺伝子を包含していないと考えられた。

#### 実施例 8 X S F 1 8 由来の 1 6 . 2 k b 断片に関する相補性試験

(材料および方法)

λファージクローン X S F 1 8 は X S F 2 0 と 5 ' 末端及び 3 ' 末端 (各々、配列番号 2 7 の塩基 2 0 3 2 8 及び 4 1 9 2 1) と同一だが、途中の塩基 3 3 9 4 7 - 3 8 5 9 1 を欠いている。よって、配列番号 2 7 の塩基 2 0 3 2 8 - 3 3 9 4 6 及び 3 8 5 9 2 - 4 1 9 2 1 を含む。これは、最初にクローン X S F 1 8 が単離されたが、単離後の増殖の過程で上記欠失を生じたことが判明したため、再度増殖をやり直すことにより、完全型のクローンを単離し、X S F 2 0 と命名したことに因る。

λファージクローン X S F 1 8 (図 5) を N o t I で完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された 1 6 . 2 k b の断片 (配列番号 2 7 の塩基 2 1 0 6 5 - 3 3 9 4 6 及び 3 8 5 9 2 - 4 1 9 2 1 を含む) を、Q I A E X I I (Q I A G E N 社) を用いて精製した。

一方、プラスミドベクター p S B 2 0 0 を N o t I で完全消化後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を T E 溶液に溶解後、C I A P (T A K A R A 社) により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、Q I A E X I I (Q I A G E N 社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

上記により準備した、X S F 1 8 由来の 1 6 . 2 k b の断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA L i g a t i o n K i t V e r . 1 (TAKARA 社) を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例 4 に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

5 (結果および考察)

形質転換植物 4 8 個体は、いずれも不稔であった(図 6)。このことから、導入した 1 6 . 2 k b 断片は、少なくとも完全長の R f - 1 遺伝子を包含していないと考えられた。

実施例 9 X S G 2 2 由来の 1 2 . 6 k b 断片に関する相補性試験

10 (材料および方法)

λファージクローン X S G 2 2 (図 1 および 5) を N o t I で部分消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された 1 2 . 6 k b の断片(配列番号 2 7 の塩基 3 1 6 8 4 - 4 4 1 0 9 を含む)を、Q I A E X I I (Q I A G E N 社) を用いて精製した。

15 一方、プラスミドベクター p S B 2 0 0 を N o t I で完全消化後、エタノール沈殿により DNA を回収した。回収した DNA を T E 溶液に溶解後、C I A P (TAKARA 社) により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、Q I A E X I I (Q I A G E N 社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

20 上記により準備した、X S G 2 2 由来の 1 2 . 6 k b の断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA L i g a t i o n K i t V e r . 1 (TAKARA 社) を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例 4 に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

(結果および考察)

25 形質転換植物 4 8 個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した 1 2 . 6 k b 断片は、少なくとも完全長の R f - 1 遺伝子を包含していないと考えられた。

実施例 1 0 X S G 1 6 由来の 1 5 . 7 k b 断片に関する相補性試験

(1)

(材料および方法)

λファージクローンXSG16 (図1および5) をNotIで部分消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された15.7 kbの断片 (配列番号27の塩基38538-54123を含む) を、QIAEXII (QIAGEN社) を用いて精製した。

一方、プラスミドベクターpSB200をNotIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP (TAKARA社) により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII (QIAGEN社) を用いてゲルからベクター断片を精製した。

上記により準備した、XSG16由来の15.7 kb断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1 (TAKARA社) を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

(結果および考察)

形質転換植物47個体のうち、少なくとも37個体は、明らかに稔性を回復していた (図6)。このことから、導入した15.7 kb断片のなかのイネ (IR24) に由来する部分である15586塩基 (配列番号27の塩基38538-54123) が、完全長のRf-1遺伝子を包含していると考えられた。

(2) XSG16内部の11.4 kb断片に関する相補性試験

(材料および方法)

λファージクローンXSG16をAlwNIおよびBsiWIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、DNA Blunting Kit (TAKARA社) により平滑化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけ、分離された11.4 kbの断片を、QIAEXII (QIAGEN社) を用いて精製した。

プラスミドベクターpSB11 (Komari et al. Plant Journal, 1996) をSmaIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP (TAKARA

社)により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、Q I A E X I I (Q I A G E N社)を用いてゲルからベクター断片を精製した。

上記により準備したふたつの断片を供試して、DNA L i g a t i o n K  
5 i t V e r. 1 (TAKARA社)を用いてライゲーション反応を行った。反応後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAを純水 (M i l l i p o r e社製装置により作成)に溶解後、大腸菌DH5 $\alpha$ と混合し、エレクトロポレーションに供試した。エレクトロポレーション後の溶液を、LB培地で振とう培養 (37 $^{\circ}$ C、1時間)した後、スペクチノマイシンを含むLBプレートに広げ、加温 (37 $^{\circ}$ C、16時間)した。生じたコロニーのなかの14個  
10 について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長パターンおよび境界部塩基配列を調査することにより、所望の大腸菌を選抜した。

上記により選抜した大腸菌を、A g r o b a c t e r i u m t u m e f a c  
i e n s 菌株LBA4404/pSB4U (高倉ら、特願2001-26998  
15 2 (WO02/019803 A1))およびヘルパー大腸菌HB101/p  
RK2013 (D i t t a e t a l, 1980)とともに供試して、D i  
t t a e t a l (1980)の方法に従い、三菌系交雑 (t r i p a r e n  
t i a l m a t i n g)を行った。スペクチノマイシンを含むABプレートに  
生じたコロニーのなかの12個について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長  
20 パターンを調査することにより、所望のアグロバクテリウムを選抜した。

上記により選抜したアグロバクテリウムを用いて、H i e i e t a l  
(1994)の方法に準拠し、MSコシヒカリ (BT細胞質を持ち、核遺伝子は  
コシヒカリとほぼ同一)の形質転換を行った。形質転換に必要なMSコシヒカリ  
の未熟種子は、MSコシヒカリにコシヒカリの花粉をかけることにより作成し  
25 た。

形質転換植物は、馴化後、長日条件の温室に移した。移植適期まで育成した後、120個体の植物を、1/5000アールのワグネルポットに移植し (4個  
体/ポット)、移植約1か月後に短日条件の温室に移した。出穂約1か月後に、

各個体から標準的な穂を1穂サンプリングし、種子稔性（総もみ数に対する稔実もみの割合）を調査した。

（結果および考察）

5 形質転換植物120個体のうち、59個体が10%以上の種子稔性を示し、そのうち19個体は70%以上の種子稔性を示した。このことから、導入した11.4 kb断片（配列番号27の42357番目の塩基から53743番目の塩基まで）が、稔性回復の機能を発現するうえで必須のRf-1遺伝子領域を包含していると考えられた。

（3） XSG16内部の6.8 kb断片に関する相補性試験

10 （材料および方法）

λファージクローンXSG16をHpaIおよびAlwNIで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された6.8 kbの断片を、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。

15 プラスミドベクターpSB11の調整を含め、以後の過程は上記（2）に記載の方法に準拠した。

（結果および考察）

20 形質転換植物120個体のうち、67個体が10%以上の種子稔性を示し、そのうち26個体は70%以上の種子稔性を示した。このことから、導入した6.8 kb断片（配列番号27の42132番目の塩基から48883番目の塩基まで）が、稔性回復の機能を発現するうえで必須のRf-1遺伝子領域を包含していると考えられた。

実施例11 XSG8由来の16.9 kb断片に関する相補性試験

（材料および方法）

25 λファージクローンXSG8（図1および5）をNotIで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された16.9 kbの断片（配列番号27の塩基46558-63364を含む）を、QIAEXII（QIAGEN社）を用いて精製した。

一方、プラスミドベクターpSB200をNotIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP



(TAKARA社)により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII (QIAGEN社)を用いてゲルからベクター断片を精製した。

上記により準備した、XSG8由来の16.9 kb断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1 (TAKARA社)を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

(結果および考察)

形質転換植物48個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した16.9 kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

#### 実施例12 XSH18由来の20.0 kb断片に関する相補性試験

(材料および方法)

λファージクローンXSH18 (図1および5)をNotIで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された20.0 kbの断片(配列番号27の塩基56409-76363を含む)を、QIAEXII (QIAGEN社)を用いて精製した。

一方、プラスミドベクターpSB200をNotIで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP (TAKARA社)により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII (QIAGEN社)を用いてゲルからベクター断片を精製した。

上記により準備した、XSH18由来の20.0 kbの断片とベクター断片の二つの断片を供試して、DNA Ligation Kit Ver. 1 (TAKARA社)を用いてライゲーション反応を行った。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

(結果および考察)

形質転換植物44個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した20.0 kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

実施例13 XSG8およびXSH18の重複部由来の19.7 kb断片に関

5 する相補性試験

(材料および方法)

実施例11におけるライゲーションによって得られた所望の大腸菌から単離したプラスミド(XSG8SB200.F)を、SalIおよびStuIで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された12.8 kbの断片  
10 (配列番号27の塩基50430-63197を含む)を、QIAEXII(QIAGEN社)を用いて精製した。

一方、実施例12におけるライゲーションによって得られた所望の大腸菌から単離したプラスミド(XSH18SB200R)を、SalI、StuIおよびXhoIで完全消化し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。分離された  
15 6.9 kb断片(配列番号27の塩基63194-70116を含む)を、QIAEXII(QIAGEN社)を用いて精製した。

さらに、プラスミドベクターpSB200をEcoRVで完全消化後、エタノール沈殿によりDNAを回収した。回収したDNAをTE溶液に溶解後、CIAP(TAKARA社)により脱リン酸化した。反応液をアガロースゲルによる電気泳動にかけた後、QIAEXII(QIAGEN社)を用いてゲルからベクター断片を精製した。  
20

上記により準備した、XSG8由来の12.8 kbの断片、XSH18由来の6.9 kbの断片、及びベクター断片の三個の断片を供試して、DNALigation Kit Ver. 1(TAKARA社)を用いてライゲーション  
25 反応を行った。ライゲーション産物は、XSG8およびXSH18の重複部由来の19.7 kb断片(配列番号27の50430-70116を含む)(図5のXSX1)を含む。以後、実施例4に記載の方法に準拠して、形質転換植物を作成・調査した。

(結果および考察)

形質転換植物40個体は、いずれも不稔であった。このことから、導入した19.7 kb断片は、少なくとも完全長のRf-1遺伝子を包含していないと考えられた。

#### 実施例14 cDNAライブラリーの作成

5  まず、戻し交雑によりコシヒカリにRf-1を導入した系統IL216（遺伝子型はRf-1/Rf-1）を作成した。前記IL216を慣行法で温室栽培し、葉耳間長が-5~5 cmの生育段階で幼穂をサンプリングした。SDS-フェノール法（Watanabe, A. and Price, C. A. (1982) Translation of mRNAs for subunits of chloroplast coupling factor 1 in spinach. Proceedings of the National Academy of Sciences of the U. S. A., 79, 6304-6308）でトータルRNAを抽出した後、QuickPrep mRNA Purification Kit (Amersham Pharmacia Biotech) によりpoly(A)<sup>+</sup> RNAを精製した。

10   nits of chloroplast coupling factor 1 in spinach. Proceedings of the National Academy of Sciences of the U. S. A., 79, 6304-6308）でトータルRNAを抽出した後、QuickPrep mRNA Purification Kit (Amersham Pharmacia Biotech) によりpoly(A)<sup>+</sup> RNAを精製した。

15   A を精製した。

次いで、精製したpoly(A)<sup>+</sup> RNA を供試して、ZAP-cDNA Synthesis Kit (Stratagene) によりcDNAライブラリーを作成した。作成したライブラリー(1ml)のタイターは16000000 pfu/mlと算出され、十分な大きさであると判断された。

20   0 pfu/mlと算出され、十分な大きさであると判断された。

#### 実施例15 cDNAライブラリーのスクリーニング

##### (1) スクリーニング用プライマーの作成

以下の2種類のプライマー、

センスプライマー

25   5' - tctcatctctctccacgccctgctc - 3'                   (配列番号76)

アンチセンスプライマー

5' - acggcggagcaattcgtcgaacac - 3'                   (配列番号77)

を用いて、IR24のゲノミッククローンXSG16をテンプレートにPCRを行った。配列番号76及び77は各々、配列番号27の塩基43733-43756及び44038-44015に相当する。

電気泳動後、約300bpの増幅産物をQIAEX II Gel Extraction Kit (QIAGEN) によりアガロースゲルから回収した。回収した断片を、Rediprime II DNA labelling system (Amersham Pharmacia Biotech) を用いて<sup>32</sup>P-ラベルした（以下、「プローブP」と呼称する）。

また、以下の2種類のプライマー、

#### 10 センスプライマー

5' - agtgtgtggcatgggtgcatttccg - 3' (配列番号78)

アンチセンスプライマー

5' - ctctacaggatacacgggtgtaagg - 3' (配列番号79)

を用いて、IR24のゲノミッククローンXSG16をテンプレートにPCRを行った。配列番号78及び79は各々、配列番号27の塩基48306-48329及び50226-50203に相当する。電気泳動後、約1900bpの増幅産物を上述の方法によりアガロースゲルから回収した。回収した断片を、上述の方法で<sup>32</sup>P-ラベルした（以下、「プローブQ」と呼称する）。

#### (2) cDNAライブラリーのスクリーニング

20 実施例14で作成したcDNAライブラリーを供試して、約15000プラークが出現した寒天培地を70枚作成した。各寒天培地について2回ずつプラークリフトを行い、Hybond-N<sup>+</sup> (Amersham Pharmacia Biotech) に転写した。一方のメンブレンをプローブPとのハイブリダイゼーションに、もう一方のメンブレンをプローブQとのハイブリダイゼーション  
25 に用いた。一連の作業は、製造者の手引書に従って行った。

ハイブリダイゼーションは、250mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、1mM EDTA および7% SDSを含むハイブリダイゼーション溶液にプローブを添加し、65℃で16時間行った。洗浄は、1×SSCおよび0.1% SDSを含む溶液により65℃、15分で2回行った後、0.1×SSCおよび0.1% SDS

を含む溶液により65℃、15分で2回行った。洗浄後のメンブレンをF U J I X B A S 1 0 0 0 (F u j i P h o t o F i l m s) で解析した。

その結果、プローブPおよびプローブQのどちらでも陽性を示すプラークが8個見出された。そこで、それらプラークを単離し、製造者 (S t r a t a g e n e) の手引書に従い p B l u e s c r i p t にサブクローニングした後、末端塩基配列を調査した。8個のクローンのうち、6個のクローンの末端塩基配列が X S G 1 6 の配列と一致した。それら6クローンの全塩基配列を決定し、結果を、配列表の配列番号69-74に示した。

配列番号69-74のいずれの配列も、配列番号75のアミノ酸配列1-791を持つタンパク質をコードすると推定される。具体的には、各々配列番号69の塩基215-2587、配列番号70の塩基213-2585、配列番号71の塩基218-2590、配列番号72の塩基208-2580、配列番号73の塩基149-2521及び配列番号74の塩基225-2597が、いずれも配列番号75のアミノ酸配列1-791をコードする。なお上記塩基配列は、配列番号27の塩基43907-46279に対応する。

配列番号75のアミノ酸配列を、トウモロコシの稔性回復遺伝子 (R f 2) の推定アミノ酸配列 (C u i e t a l. , 1996) と比較したところ、N末端の7アミノ酸残基 (M e t - A l a - A r g - A r g - A l a - A l a - S e r) が一致した。これら7アミノ酸残基はミトコンドリアへの標的化シグナルの一部と考えられている (L i u e t a l. , 2001)。これらのことから、今回単離したcDNAはR f - 1 遺伝子のコーディング領域を完全に包含すると考えられる。イネR f - 1 とトウモロコシR f 2 とのアミノ酸レベルでの相同性は、前述の領域を除いては見られない。遺伝子産物がミトコンドリアに移行してからの稔性回復機構は、両者で異なるものと推測される。

また、今回単離したcDNAの配列をI R 2 4 のゲノム配列 (配列番号27) と比較することにより、エキソンとイントロンの構造が明らかになった (図7)。その結果、植物体内において、スプライシング様式およびポリA付加位置を異にする種々の転写産物が混在していることが示された。

#### 実施例 1 6 相補性試験

実施例 10 (3) において、稔性回復能を持つことが証明された I R 2 4 由来の 6. 8 k b ゲノム断片を含むプラスミド中の、R f - 1 遺伝子のプロモーター領域と予想翻訳領域とを包含する 4. 2 k b 断片を用いて、相補性実験を行った。

5      先ず、上記実施例 10 (3) のプラスミドを E c o R I で処理し、アガロースゲルによる電気泳動を行った。R f - 1 のプロモーター領域と予想翻訳領域とを包含する 4. 2 k b 断片 (配列番号 27 の塩基 4 2 1 3 2 - 4 6 3 1 8 に相当する) を分離し、Q I A E X I I (Q I A G E N) を用いてゲルから回収した。この 4. 2 k b 断片を、E c o R I 処理後 C I A P (TAKARA) 処理した p B  
10    l u e s c r i p t I I   S K ( - ) とともに供試して、DNA   L i g a t i o n   K i t   V e r .   1 (TAKARA社) を用いてライゲーション反応を行った。反応後、エタノール沈殿により DNA を回収した。

回収した DNA を純水 (M i l l i p o r e 社製装置により作成) に溶解後、大腸菌 D H 5  $\alpha$  と混合し、エレクトロポレーションに供試した。エレクトロポ  
15    レーション後の溶液を、L B 培地で振とう培養 (37°C、1 時間) した後、アンピシリンを含む L B プレートに広げ、加温 (37°C、16 時間) した。生じたコロニーのなかの 12 個について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長パターンおよび境界部塩基配列を調査することにより、所望の大腸菌を選抜した。つぎに、選抜した大腸菌から単離したプラスミドを、B a m H I および S a l I で処  
20    理後、アガロースゲルによる電気泳動を行い、R f - 1 のプロモーター領域と予想翻訳領域とを包含する 4. 2 k b 断片を分離し、Q I A E X I I (Q I A G E N) を用いてゲルから回収した。

一方、T n o s J H 0 0 7 2 (n o s ターミネーターおよびアンピシリン耐性遺伝子カセットを持つ中間ベクター) を B a m H I および S a l I で処理後、ア  
25    ガロースゲルによる電気泳動を行った。n o s ターミネーターおよびアンピシリン耐性遺伝子カセットとを包含する 3. 0 k b 断片を分離し、Q I A E X I I (Q I A G E N) を用いてゲルから回収した。

R f - 1 のプロモーター領域と予想翻訳領域とを包含する 4. 2 k b 断片及び T n o s J H 0 0 7 2 由来の断片を、前述の方法でライゲーション反応およびポ

レーションを行った。アンピシリンを含むLBプレートに広げ、加温（37°C、16時間）後、生じたコロニーのなかの12個について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長パターンおよび境界部塩基配列を調査することにより、所望の大腸菌を選抜した。

5 さらに、上述のとおり選抜した大腸菌から単離したプラスミドを、SgfIで処理後、アガロースゲルによる電気泳動を行い、Rf-1のプロモーター領域と予想翻訳領域とを包含する4.2kb断片を分離し、QIAEXII（QIAGEN）を用いてゲルから回収した。この4.2kb断片を、PacI処理後CIAP（TAKARA）処理したpSB200Pac（ハイグロマイシン耐性遺伝子カセットを持つ中間ベクター）とともに供試して、前述の方法でライゲーション反応およびポレーションを行った。スペクチノマイシンを含むLBプレートに広げ、加温（37°C、16時間）後、生じたコロニーのなかの16個について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長パターンおよび境界部塩基配列を調査することにより、所望の大腸菌を選抜した。

15 以上の工程により、Rf-1のプロモーター領域とRf-1の予想翻訳領域を含む断片にnosターミネーターが接続されたキメラ遺伝子が、中間ベクター内に挿入された大腸菌が得られた。この大腸菌を、Agrobacterium tumefaciens 菌株LB4404/pSB1（Komari et al, 1996）およびヘルパー大腸菌HB101/pRK2013（Ditta et al, 1980）とともに供試して、Ditta et al（1980）の方法に従いtriparential matingを行った。スペクチノマイシンを含むABプレートに生じたコロニーのなかの6個について、プラスミドを単離し、制限酵素断片長パターンを調査することにより、所望のアグロバクテリウムを選抜した。

25 上記により選抜したアグロバクテリウムを用いて、Hiei et al（1994）の方法に準拠し、MSコシヒカリ（BT細胞質を持ち、核遺伝子はコシヒカリとほぼ同一）の形質転換を行った。形質転換に必要なMSコシヒカリの未熟種子は、MSコシヒカリにコシヒカリの花粉をかけることにより作成した。

形質転換植物は、馴化後、長日条件の温室に移した。移植適期まで育成した後、32個体の植物を、1/5000アールのワグネルポットに移植し（4個体？ポット）、移植3～4週間後に短日条件の温室に移した。出穂約1か月後に、種子稔性を立毛調査した。その結果、32個体のうち28個体は、稔性を回復していることがわかった。

以上の結果から、予想翻訳領域を発現させることによりRf-1遺伝子の機能を付与できることが、実験的に証明された。

#### 実施例17 cDNA単離

実施例15は、プローブPおよびプローブQによりIR24幼穂由来cDNAライブラリーをスクリーニングし、どちらのプローブでも陽性を示すプラークを単離・解析することにより、6個のcDNAを単離した。本実施例では、プローブPおよび下記のプローブRにより同様のスクリーニングを行うことにより、さらに6個のcDNAを単離した。詳細は、以下のとおりである。

まず、2種類のプライマー、

センスプライマー

5' -cagttgggttgaaacctaatactg- 3' (配列番号86)

アンチセンスプライマー

5' -cactaaaccgtagacgagaaagc- 3' (配列番号87)

を用いて、IR24のゲノミッククローンXSG16をテンプレートにPCRを行った。配列番号86および87は各々、配列番号27の塩基45522-45545及び45955-45932に相当する。

電気泳動後、約430bpの増幅産物をQIAEX II (QIAGEN)によりアガロースゲルから回収した。回収した断片を、Rediprime II DNA labelling system (Amersham Pharmacia Biotech)を用いて<sup>32</sup>P-ラベルした（プローブR、図8）。

IR24幼穂由来cDNAライブラリーを供試して、約15000プラークが出現した寒天培地を20枚作成した。各寒天培地について2回ずつプラークリフトを行い、Hybond-N<sup>+</sup> (Amersham Pharmacia Biotech)に転写した。一方のメンブレンを実施例15のプローブPとのハイ



ブリダイゼーションに、もう一方のメンブレンをプローブRとのハイブリダイゼーションに用いた。一連の作業は、製造者の手引書に従って行った。その結果、プローブPおよびプローブRのどちらでも陽性を示すプラークが12個見出された。

5      そこで、それらプラークを単離し、製造者（Stratagene）の手引書に従いpBluescriptにサブクローニングした後、末端塩基配列を調査した。12個のクローンのうち、6個のクローンの末端塩基配列がXSG16の配列と一致したため、それら6クローンの全塩基配列を決定した（#7-#12）。その結果を配列番号80-85に示す。

10      配列番号80-85のいずれの配列も、配列番号75のアミノ酸配列1-791を持つタンパク質をコードすると推定される。具体的には、各々配列番号80の塩基229-2601、配列番号81の塩基175-2547、配列番号82の塩基227-2599、配列番号83の塩基220-2592、配列番号84の塩基174-2546及び配列番号85の塩基90-2462が、いずれも配  
15      列番号75のアミノ酸配列1-791をコードする。なお上記塩基配列は、配列番号27の塩基43907-46279に対応する。

今回単離したcDNAの配列をIR24のゲノム配列（配列番号27）と比較することにより、エキソンとイントロンの構造が明らかになった（図8）。今回単離したcDNAのなかには、予想翻訳領域とは関係のないエキソンを含まず、  
20      単一エキソンからなるものも3個存在した（#10-#12、配列番号83-85）。

## 請求の範囲

1. 配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸をイネに導入することにより、イネの稔性を回復する方法。
2. 配列番号 75 のアミノ酸配列をコードする核酸をイネに導入することにより、イネの稔性を回復する、請求項 1 に記載の方法。
3. 配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸が、以下の a) - p) の核酸から選択される、請求項 1 又は 2 に記載の方法：
- a) 配列番号 69 の塩基 215 - 2587 を含む核酸；
  - b) 配列番号 70 の塩基 213 - 2585 を含む核酸；
  - c) 配列番号 71 の塩基 218 - 2590 を含む核酸；
  - d) 配列番号 72 の塩基 208 - 2580 を含む核酸；
  - e) 配列番号 73 の塩基 149 - 2521 を含む核酸；
  - f) 配列番号 74 の塩基 225 - 2597 を含む核酸；
  - g) 配列番号 27 の塩基 43907 - 46279 を含む核酸；
  - h) 配列番号 80 の塩基 229 - 2601 を含む核酸；
  - i) 配列番号 81 の塩基 175 - 2547 を含む核酸；
  - j) 配列番号 82 の塩基 227 - 2599 を含む核酸；
  - k) 配列番号 83 の塩基 220 - 2592 を含む核酸；
  - l) 配列番号 84 の塩基 174 - 2546 を含む核酸；
  - m) 配列番号 85 の塩基 90 - 2462 を含む核酸；
  - n) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも 70 % 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；
  - o) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン ト な 条 件 下 で ハイ ブ リ ダ イ ズ し、かつ、稔性回復機能を有する核酸；及び

p) 上記 a) - m) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。

4. 配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸が、以下の条件 1) - 12) の少なくとも一つを満たす、請求項 3 に記載の方法：

- 1) 配列番号 69 の塩基 1769 に相当する塩基が A である；
- 2) 配列番号 70 の塩基 1767 に相当する塩基が A である；
- 3) 配列番号 71 の塩基 1772 に相当する塩基が A である；
- 10 4) 配列番号 72 の塩基 1762 に相当する塩基が A である；
- 5) 配列番号 73 の塩基 1703 に相当する塩基が A である；
- 6) 配列番号 74 の塩基 1779 に相当する塩基が A である；
- 7) 配列番号 80 の塩基 1783 に相当する塩基が A である；
- 8) 配列番号 81 の塩基 1729 に相当する塩基が A である；
- 15 9) 配列番号 82 の塩基 1781 に相当する塩基が A である；
- 10) 配列番号 83 の塩基 1774 に相当する塩基が A である；
- 11) 配列番号 84 の塩基 1728 に相当する塩基が A である；又は
- 12) 配列番号 85 の塩基 1644 に相当する塩基が A である。

5. 配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸を利用して被検定イネ個体又は種子が稔性回復遺伝子 (Rf-1 遺伝子) を有するか否かを識別する方法。

6. 以下の a) - p) の核酸：

- a) 配列番号 69 の塩基 215 - 2587 を含む核酸；
- 25 b) 配列番号 70 の塩基 213 - 2585 を含む核酸；
- c) 配列番号 71 の塩基 218 - 2590 を含む核酸；
- d) 配列番号 72 の塩基 208 - 2580 を含む核酸；
- e) 配列番号 73 の塩基 149 - 2521 を含む核酸；
- f) 配列番号 74 の塩基 225 - 2597 を含む核酸；

- g) 配列番号 27 の塩基 4 3 9 0 7 - 4 6 2 7 9 を含む核酸 ;
- h) 配列番号 80 の塩基 2 2 9 - 2 6 0 1 を含む核酸 ;
- i) 配列番号 81 の塩基 1 7 5 - 2 5 4 7 を含む核酸 ;
- j) 配列番号 82 の塩基 2 2 7 - 2 5 9 9 を含む核酸 ;
- 5 k) 配列番号 83 の塩基 2 2 0 - 2 5 9 2 を含む核酸 ;
- l) 配列番号 84 の塩基 1 7 4 - 2 5 4 6 を含む核酸 ;
- m) 配列番号 85 の塩基 9 0 - 2 4 6 2 を含む核酸 ;
- n) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも 70 % 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸 ;
- 10 o) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のスリンジェン  
トな条件下でハイブリダイズし、かつ、稔性回復機能を有する核酸 ; 及び
- p) 上記 a) - m) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸
- 15 のいずれかを利用する、請求項 5 に記載の方法。
7. 配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸が、以下の条件 1) - 12) の少なくとも一つを満たす場合に被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有すると判断する、請求項 5 又は 6 に記載の方法 :
- 20 1) 配列番号 69 の塩基 1 7 6 9 に相当する塩基が A である ;
- 2) 配列番号 70 の塩基 1 7 6 7 に相当する塩基が A である ;
- 3) 配列番号 71 の塩基 1 7 7 2 に相当する塩基が A である ;
- 4) 配列番号 72 の塩基 1 7 6 2 に相当する塩基が A である ;
- 25 5) 配列番号 73 の塩基 1 7 0 3 に相当する塩基が A である ; は
- 6) 配列番号 74 の塩基 1 7 7 9 に相当する塩基が A である ;
- 7) 配列番号 80 の塩基 1 7 8 3 に相当する塩基が A である ;
- 8) 配列番号 81 の塩基 1 7 2 9 に相当する塩基が A である ;
- 9) 配列番号 82 の塩基 1 7 8 1 に相当する塩基が A である ;

- 1 0) 配列番号 8 3 の塩基 1 7 7 4 に相当する塩基が A である ;
- 1 1) 配列番号 8 4 の塩基 1 7 2 8 に相当する塩基が A である ; 又は
- 1 2) 配列番号 8 5 の塩基 1 6 4 4 に相当する塩基が A である。

8. i) 以下のいずれかの塩基、

- 5 1) 配列番号 6 9 の塩基 1 7 6 9 に相当する塩基 ;
- 2) 配列番号 7 0 の塩基 1 7 6 7 に相当する塩基 ;
- 3) 配列番号 7 1 の塩基 1 7 7 2 に相当する塩基 ;
- 4) 配列番号 7 2 の塩基 1 7 6 2 に相当する塩基 ;
- 5) 配列番号 7 3 の塩基 1 7 0 3 に相当する塩基 ;
- 10 6) 配列番号 7 4 の塩基 1 7 7 9 に相当する塩基 ;
- 7) 配列番号 8 0 の塩基 1 7 8 3 に相当する塩基 ;
- 8) 配列番号 8 1 の塩基 1 7 2 9 に相当する塩基 ;
- 9) 配列番号 8 2 の塩基 1 7 8 1 に相当する塩基 ;
- 1 0) 配列番号 8 3 の塩基 1 7 7 4 に相当する塩基 ;
- 15 1 1) 配列番号 8 4 の塩基 1 7 2 8 に相当する塩基 ; 及び
- 1 2) 配列番号 8 5 の塩基 1 6 4 4 に相当する塩基

を含む隣接領域の塩基配列に基づいて、上記塩基と隣接領域の双方を増幅するようにプライマー対を作成し ;

- 20 i i) 被検定イネ個体又は種子のゲノム DNA を鋳型として核酸増幅反応を行い ; そして

i i i) 前記核酸増幅産物に見出される多型に基づいて被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子の有無を識別する、請求項 6 又は 7 に記載の方法。

- 9. 工程 i i i) が、以下の条件 1) - 1 2) の少なくとも一つを満たす場合に被検定イネ個体又は種子が R f - 1 遺伝子を有すると判断する、請求項 8 に記載の方法 :
- 25

1) 配列番号 6 9 の塩基 1 7 6 9 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない ;

2) 配列番号 7 0 の塩基 1 7 6 7 に相当する塩基を含む領域が、T a q I 認識配列を有しない ;

3) 配列番号 71 の塩基 1772 に相当する塩基を含む領域が、TaqI 認識配列を有しない；

4) 配列番号 72 の塩基 1762 に相当する塩基を含む領域が、TaqI 認識配列を有しない；

5 5) 配列番号 73 の塩基 1703 に相当する塩基を含む領域が、TaqI 認識配列を有しない；

6) 配列番号 74 の塩基 1779 に相当する塩基を含む領域が、TaqI 認識配列を有しない；

10 7) 配列番号 80 の塩基 1783 に相当する塩基を含む領域が、TaqI 認識配列を有しない；

8) 配列番号 81 の塩基 1729 に相当する塩基を含む領域が、TaqI 認識配列を有しない；

9) 配列番号 82 の塩基 1781 に相当する塩基を含む領域が、TaqI 認識配列を有しない；

15 10) 配列番号 83 の塩基 1774 に相当する塩基を含む領域が、TaqI 認識配列を有しない；

11) 配列番号 84 の塩基 1728 に相当する塩基を含む領域が、TaqI 認識配列を有しない；又は

20 12) 配列番号 85 の塩基 1644 に相当する塩基を含む領域が、TaqI 認識配列を有しない。

10. 配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸、に対し相補的な塩基配列から選択される、連続した少なくとも 100 塩基の長さのアンチセンスを導入することにより、Rf-1 遺伝子の稔性回復  
25 機能を抑制する方法。

11. 配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70% 同一のアミノ酸配列をコードする核酸が、以下の a) - p) の核酸から選択される、請求項 10 に記載の方法：

a) 配列番号 69 の塩基 215 - 2587 を含む核酸；

- b) 配列番号 70 の塩基 213-2585 を含む核酸 ;  
c) 配列番号 71 の塩基 218-2590 を含む核酸 ;  
d) 配列番号 72 の塩基 208-2580 を含む核酸 ;  
e) 配列番号 73 の塩基 149-2521 を含む核酸 ;  
5 f) 配列番号 74 の塩基 225-2597 を含む核酸 ;  
g) 配列番号 27 の塩基 43907-46279 を含む核酸 ;  
h) 配列番号 80 の塩基 229-2601 を含む核酸 ;  
i) 配列番号 81 の塩基 175-2547 を含む核酸 ;  
j) 配列番号 82 の塩基 227-2599 を含む核酸 ;  
10 k) 配列番号 83 の塩基 220-2592 を含む核酸 ;  
l) 配列番号 84 の塩基 174-2546 を含む核酸 ;  
m) 配列番号 85 の塩基 90-2462 を含む核酸 ;  
n) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と少なくとも 70 % 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸 ;  
15 o) 上記 a) - m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン ト な 条 件 下 で ハ イ ブ リ ダ イ ズ し、かつ、稔性回復機能を有する核酸 ; 及び  
p) 上記 a) - m) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。  
12. 配列番号 75 のアミノ酸配列、又は配列番号 75 のアミノ酸配列と少なくとも 70 % 同一のアミノ酸配列をコードする核酸であって、稔性回復機能を有する核酸。

13. 以下の a) - p) の核酸から選択される、請求項 11 に記載の核酸 :  
a) 配列番号 69 の塩基 215-2587 を含む核酸 ;  
b) 配列番号 70 の塩基 213-2585 を含む核酸 ;  
25 c) 配列番号 71 の塩基 218-2590 を含む核酸 ;  
d) 配列番号 72 の塩基 208-2580 を含む核酸 ;  
e) 配列番号 73 の塩基 149-2521 を含む核酸 ;  
f) 配列番号 74 の塩基 225-2597 を含む核酸 ;  
g) 配列番号 27 の塩基 43907-46279 を含む核酸 ;

- h) 配列番号 80 の塩基 229-2601 を含む核酸；
- i) 配列番号 81 の塩基 175-2547 を含む核酸；
- j) 配列番号 82 の塩基 227-2599 を含む核酸；
- k) 配列番号 83 の塩基 220-2592 を含む核酸；
- 5 l) 配列番号 84 の塩基 174-2546 を含む核酸；
- m) 配列番号 85 の塩基 90-2462 を含む核酸；
- n) 上記 a) -m) のいずれかの核酸と少なくとも 70% 同一であり、かつ、稔性回復機能を有する核酸；
- o) 上記 a) -m) のいずれかの核酸と中程度又は高程度のス 트리 ン ジ ェ ン
- 10 ト な 条 件 下 で ハ イ ブ リ ダ イ ズ し、 かつ、 稔 性 回 復 機 能 を 有 す る 核 酸 ； 及 び
- p) 上記 a) -m) のいずれかの核酸に 1 ないし複数の塩基が欠失、挿入又は置換しており、かつ、稔性回復機能を有する核酸。



☒ 1

RFLP Probe (S12564)

☐

Probe A ■ Probe E ■ Probe F ■ Probe G ■ Probe H ■

WSA 1 \_\_\_\_\_

WSA 3 \_\_\_\_\_

WSE 8 \_\_\_\_\_

WSF 5 \_\_\_\_\_

WSF 7 \_\_\_\_\_

WSG 6 \_\_\_\_\_

WSG 2 \_\_\_\_\_

(1) あそみのり

XSE 1 \_\_\_\_\_ 12481

XSE 7 \_\_\_\_\_ 2618 17261

XSF 4 \_\_\_\_\_ 12478 33750

XSF 20 \_\_\_\_\_ 20328 41921

XSG 22 \_\_\_\_\_ 31684 48847

XSG 16 \_\_\_\_\_ 38538 54123

XSG 8 \_\_\_\_\_ 46558 63364

XSH 18 \_\_\_\_\_ 56409 76363

(2) IR24

図 2

あそみのりコンティグ



IR24コンティグ



AC068923



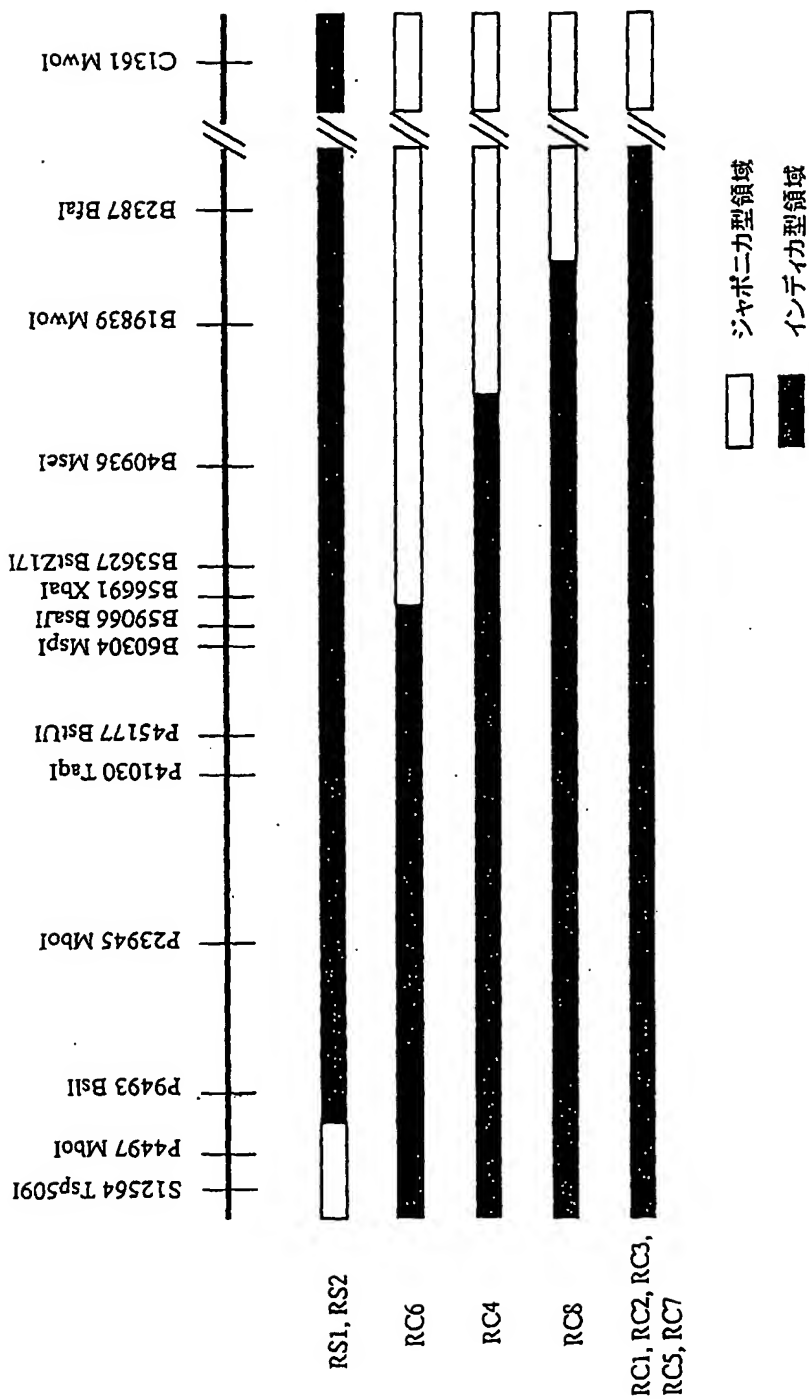


図4

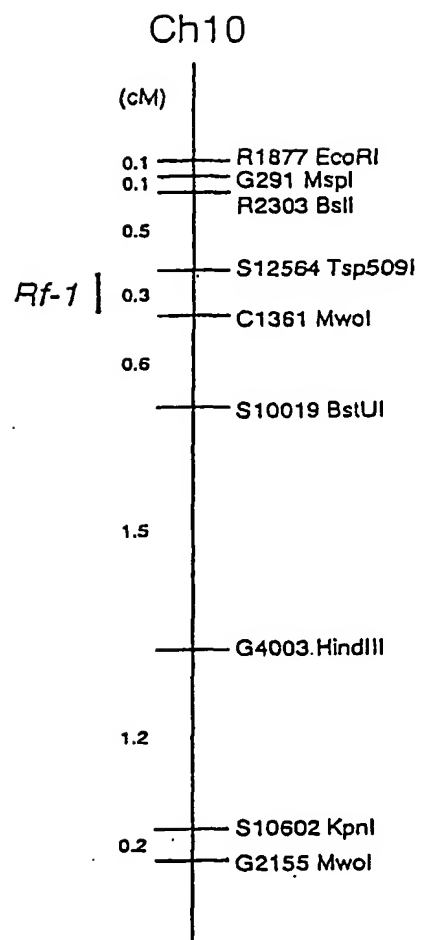


図 5

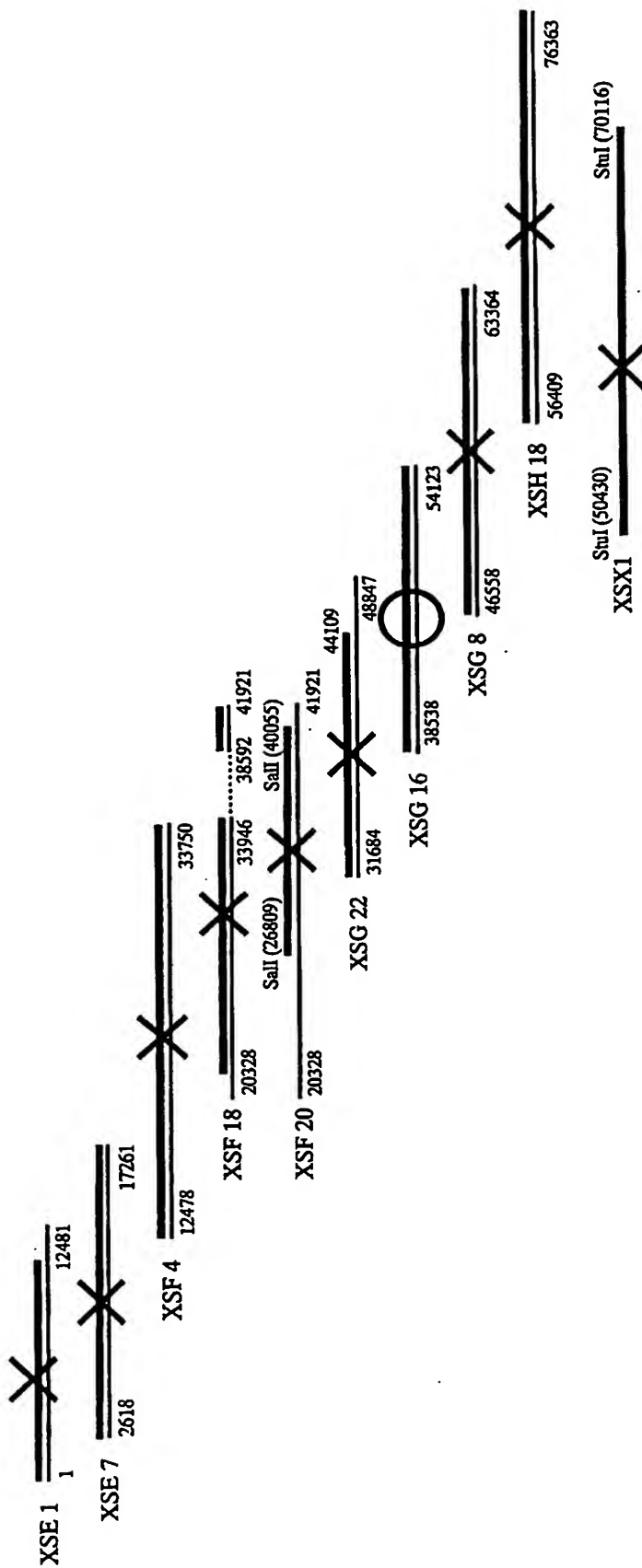


図 6

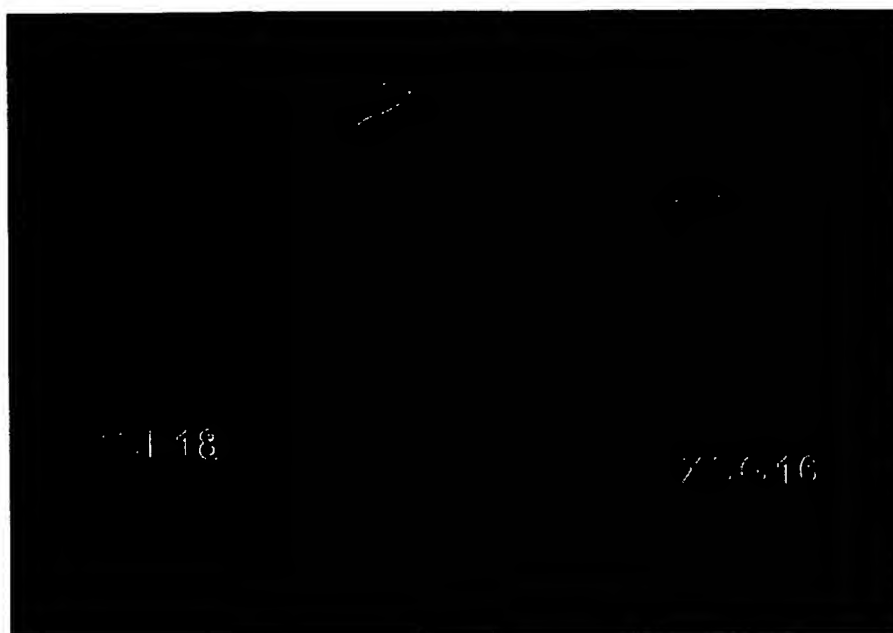
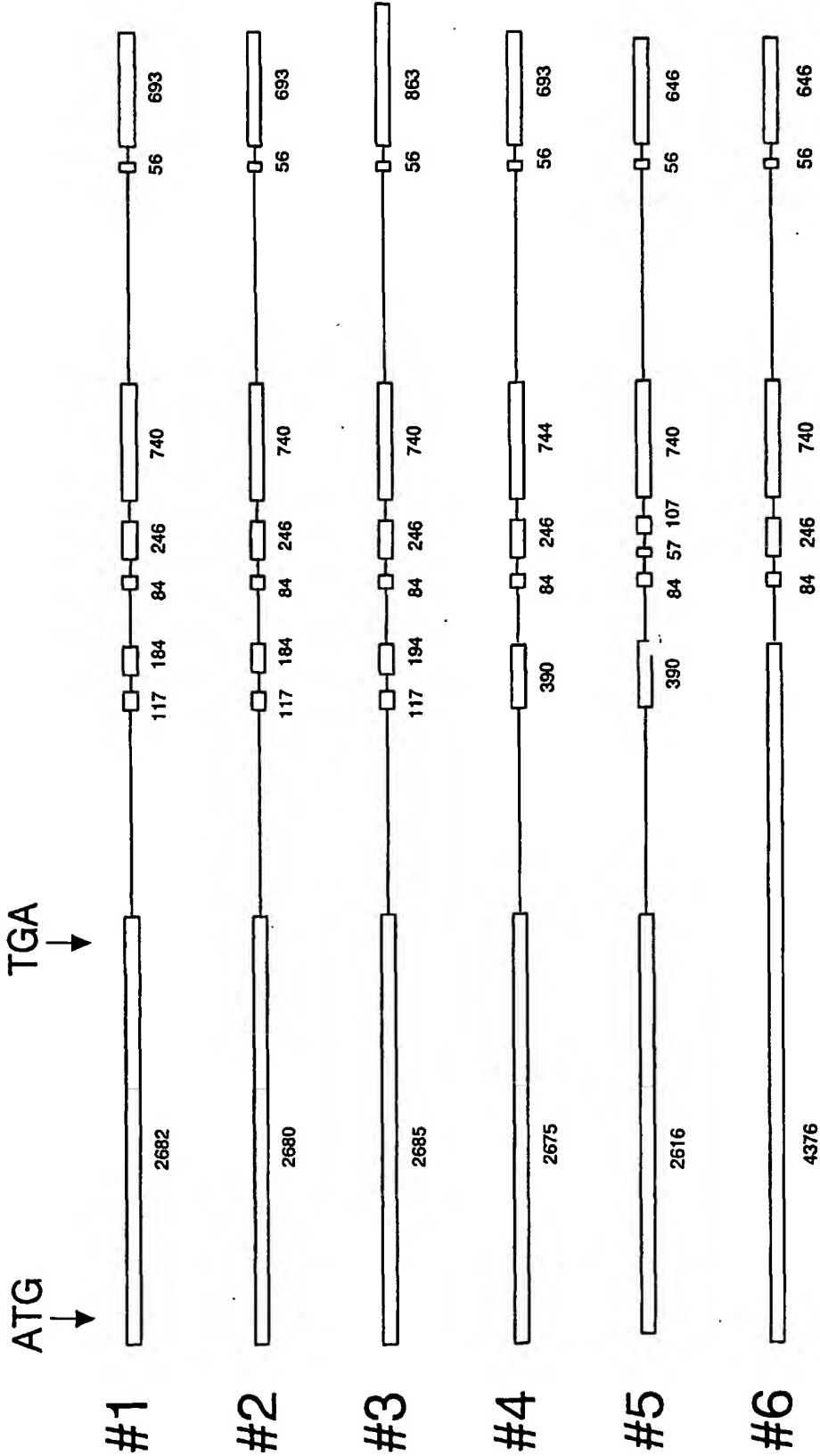
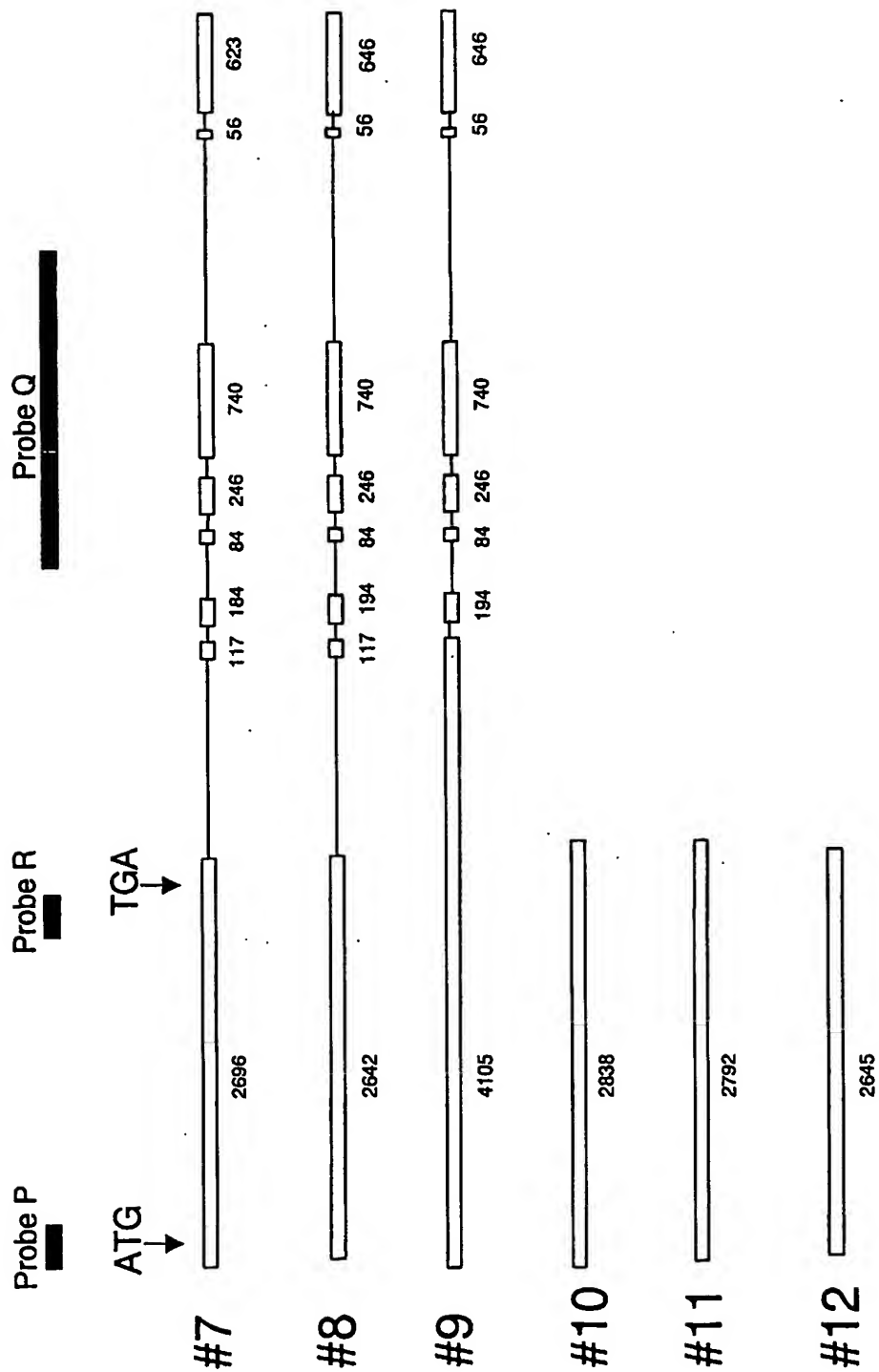


図 7



8

4.2kb genomic fragment of IR24





## SEQUENCE LISTING

<110> JAPAN TOBACCO INC.

Syngenta Limited

<120> The rice restorer gene to the rice BT type cytoplasmic male sterility.

<130> YCT811

<150> JP 2002-197560

<151> 2002-07-05

<160> 87

<210> 1

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of R1877 EcoRI marker sequence.

<400> 1

cattcctgct tccatggaaa cgtc 24

<210> 2

<211> 33

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of R1877 EcoRI marker

sequence.

<400> 2

ctctttctgt atacttgagc ttigacatct gac 33

<210> 3

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G4003 HindIII marker sequence.

<400> 3

gatcgacgag tacctgaacg 20

<210> 4

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G4003 HindIII marker sequence.

<400> 4

aatagttgga ttgtcctcaa aggg 24

<210> 5

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of C1361 MwoI marker sequence.

<400> 5

aaagcaaccg acttcagtgg catcacc 27

<210> 6

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of C1361 MwoI marker sequence.

<400> 6

ctggacttca tticcctgca gaggc 24

<210> 7

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G2155 MwoI marker sequence.

<400> 7

gaccaccaat taactgatta agctggc 27

<210> 8

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G2155 MwoI marker sequence.

<400> 8

tttctggctc caataatcag ctgtagc 27

<210> 9'

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G291 MspI marker sequence.

<400> 9

ctgctgcagg aagctgcacc gaaccgg 27

<210> 10

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of G291 MspI marker sequence.

<400> 10

acattttttc ttccgaaact tccg 24

<210> 11

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of R2303 BslI marker sequence.

<400> 11

atggaaagat acactagaat gagc 24

<210> 12

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of R2303 BslI marker sequence.

<400> 12

atcttatata gtggcaggaa agcc 24

<210> 13

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S10019 BstUI marker sequence.

<400> 13

aacaatctta tcctgcacag actg 24

<210> 14

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S10019 BstUI marker sequence.

<400> 14

gtcacataga agcagatggg ttcc 24

<210> 15

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S10602 KpnI marker sequence.

<400> 15

agctgttgag agttctatgc cacc 24

<210> 16

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S10602 KpnI marker sequence.

<400> 16

tagccatgca acaagatgtc atac 24

<210> 17

<211> 26

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S12564 Tsp509I marker sequence.

<400> 17

ctagttagac cgaataactg aggttc 26

<210> 18

<211> 27

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification of S12564 Tsp509I marker sequence.

<400> 18

tttgtgggtt tgtggcattg agaaaat 27

<210> 19

<211> 2240

<212> DNA

<213> Oryza sativa L.

<223> PCR marker G4003 HindIII

<400> 19

gcggccgctc cggaagtcg agcgagtaga cccccctgac gccgtacgcg tcggcgagcc 60  
gcagcggcgt ctctggcggg gtgaaggaca gcccgcttcag cgtcgcgcgg cgccgcccgt 120  
tgatcgtcac cggcgccgtg ctccgcagca ggtacgcctg cgtcacgttg atcgacgagt 180  
acctgaacga tccctgtggg ttcggcctcg ccgctccggc actcaggttc cacctgcccc 240

atgcaaaaaa ccaaaaccca aaagcttaat gcgaataata catcattcca cgtattttaa 300  
aaaataatit ataggtaaaa tttttataat gtatttttagc gacgtaaatg tcaatgctga 360  
gaaataaacg ataatactit aaatgaagtt ctaaaaattta aattttggca tgggttgatg 420  
ttggataaag aaaacgatgg aggctagtaa tttttcttct tttttaagta tctagattgt 480  
catatattga atttttcagt ttttcatccc tttagaggaca atccaactat tattttcctt 540  
ttcttaigta aaaggttgaa caacataatc aaacataaaa aaataaaaat aaatgaaata 600  
aatttacaat tcataaaaatt tacagaaitt atgittaagaa aatatitcaa cttagataat 660  
aataaagcaa caaaatcgta ctaaaaagaa gtataattgt acattgtata ctactactcc 720  
tacaatttta gacttagaat ttttaaittc ctgaaatcta gtaatgccat tttttctttt 780  
ctagttgaac cagacagtta gttaaactcg aaacttataa gctaatgagc gaagtcgggc 840  
aatctactcg tacctgacgg agcgagcttg gtatcatggag aaggacttgt cgaactggtc 900  
ctggggaggg tgggggagcg ggccggaggc ccgcccccg gagttggagt agcggaggac 960  
ggcgacgccg gcgacgcggc gccacacggt gtcgttcacc atgcgcgcgc tggcgacgac 1020  
gtagtatcgc gagctcgctt tctggtcggt ggtgacgagg aaggagtagg actggccgac 1080  
gtggacgtcc aggttgggtt agttctgctg cgtcgtgtag gagccctccg tctccaccag 1140  
caccatgttg tgcccttgga tccigaagtt gaggtcgtc gacgtcccca cgttgtgcac 1200  
tcggatcctg tacgtcttgc ctggtcctcc acaccgacgt cgccgacaca cgcgcaaaag 1260  
ataatagact cattgtlaagt aggtagtaac ctctctcggt tcatattata aatcgtttga 1320  
ttatatitit gttagttaaa ctcttttaag ttttttttct ataaacttaa ttaaatctaa 1380  
agaattitaa taaaaaaaaat caaacgactt ataataaaa atggatggag tagttgcac 1440  
aatttgttga tgaagcaaac aagattatat cctttcatg aggttgaaag tattcagtga 1500  
acaattcgtc agtttcaagt ttcatgaaat cggacagggt ctctgaaagt ctgtattttt 1560  
ggtactgttg gattgactac tctggcttct gttgtcacat ctttgtatc ctagtttcgg 1620  
taaaaaaaaa tttggcattt ttactcctat cgttgatctg tttaactgaa accattgcat 1680  
gatatactac tagcagacaa aactgggtgaa aattcacgag aatgaacttt ttgtcagtta 1740  
agcattagcg gacagcttca gtaagcagag caggctgcc taaaggctta agcactatct 1800  
tccacaacac ttgttcctac aatcaaatc caaatitact atcacaaaa gcgaaggaac 1860  
taactaaacc ttactcctac tagtactact gctatgacta tgaacaaga ttccaatcca 1920  
aagaaaacac agtgcctgat cagcatgata aaagcaacga aacctgtca tccagctgcc 1980



aaaatgccac cccactgact ctacgiacgt actacgtatt gacgctgtaa aaaactagcc 2040  
 gtagtacaga gaagaggacc caaagtttcg tcaaaaattt tatittaccc ggaiccacat 2100  
 tgatggctct gtactcgatg ccggccggga caaggctgtc gtigtacctg tacgggccct 2160  
 tgccgttaat cagcacgccg tccggcatcc cgaggctcct gccactgtcc agcatcttcc 2220  
 tcagatccctg caacgaattc 2240

<210> 20

<211> 2601

<212> DNA

<213> *Oryza sativa* L.

<223> PCR marker C1361 MwoI

<400> 20

tcttgcctgag atccaagttg cggtaacttt gcccttttct tttttcttct tcttctgaat 60  
 tttttcatgg tttttgggag agattttcgt aacttgatta cagttctagg aaaaggccac 120  
 cttgttcaaa cagggcttct ttgaaaggga tcaatttgct aggagtlacat gattctaaaa 180  
 gcgatttcga aataaaacac agttctcga ctcataacctg aaaacaaaag gcccatactg 240  
 tgtaaactgt gattatgcct ctgttaaatg ggatatttgt acaaaatiga cgccaaccac 300  
 ctataaacag attgtgagct tttatcttag taaaataaaa tgtgacattc tactcagtgt 360  
 tcagtgatcc gatgtcgtct cttctgcgta caacttctaa cagccgtttt cggtagtlaca 420  
 aactagcgaa acaccaaaaa cgcagcattt gagttctgga atacgtgaa attgttagaa 480  
 tcaaccacga aaccaaaatc attgttcaga aacgttgcaa cgagataaaa cacaagaact 540  
 tgttttaaca aagcatacgg acagtacata tacggtlaca acaccagtc ttatacagt 600  
 tctgctggag ttccatctac tggctgtcat tgtatctcag gacagacagg ttaacatagg 660  
 tacaacacaa ttacaggcta aaccgaagcg aactacactg tcagcatctc taacagtatc 720  
 gtcaagcaag cttatttaca gctgctctag taaatttaca acgtccctgg cagaatccct 780  
 ctcgtttctg gcagcgacga ggcacggctc atggccttag caggacatct caccgctcag 840  
 ctgcatagaa agcaaccgac ttcagtgga tccactcctg ctccctgcaa aaagttgggt 900  
 cgatcaatca cgcgtttaat ccaaaacaaa atgggtattt attatgctag cctaigaagc 960  
 tacctcagag ttctctatit gctctgcagg gaaatgaagt ccagtggaac agttctcaag 1020

cacctcaggg ctcttcatcc atgctttgig tgcitcaatg gctttcagct tatagcgaaa 1080  
catctgcgat acggatctaa aattaaggat gtcgacaatt acttaacaca acaaataatt 1140  
gaagcaggic cagttaaaga aaagtagcag cgaagaatag cactctgaag tctgaacctc 1200  
agataaagaa atggttgggt tticcagttc atctccctca acatggattc cagtaccttg 1260  
gcattctggg caaaggatgg atgttatitt cttagggtgca ttttttgcc ttttctctcg 1320  
attgcttttt cccttgcttg caattttgic tgctagcatc tcatattggc ataaaatagt 1380  
ccagtgacaa aggcaagaag tgtgaaacaa atgaaatgcc tgcaaaatta gccgtacaaa 1440  
gtcattggag gttgcagcag aatactacaa atttttaag aagaaactat acactgtcta 1500  
tgttttgctt gaaatgaatt caaccacttt gcattatagc gtttggaatc cctggtttgt 1560  
gagaactgta attccattac aacagtgaag aagttaccat aactaatgaa tggaaattag 1620  
tcaaatgcct aatttttttag gtttgcttta atttatttat ctgtgagaaa tgctaagcat 1680  
gtcatgcgtt gctatcttca agaaatacta agaaactgca aaggcaaaga atgtttgaaa 1740  
taacttacc cgtttgagtt tctactgctg caggctagat ttctgtctt gcagttgagc 1800  
aaggtagcta catccttttc aagaagcatt ggtcgccac aaataacaca agctttctca 1860  
gcagcaaggc gcttctgctt acgcaactcc ctctcatag atttggtgga taagaggcca 1920  
acttgaagat tgtgtgaagt acctgtcggg gaacctgtta tgatagcttg gctattgtca 1980  
tgggcggagc tgccttgctc attcgactcc tctgaagatg cttcttgatc tgaaaatgac 2040  
ttctttcttc tctttccacg gtgtccagca tcatcaatca cgaagaaaga tccagcagag 2100  
ataggaaggt cctgatcatc agaagaccac ttctgcca actcaattgt ataagagaag 2160  
ttgacaatgg caaagtcaga ttgtcatag gtgtcacact catccaagcc atgggagcca 2220  
tctgttcta cccaagcaca ccagatcttg ctaatctttt tacttcttt gctagcttcc 2280  
cataacctgt atgcaatatt tccatatccc aaaagatgca caggcaaact cgaaacaaca 2340  
tcttttagca atacactagg aataacgaga ggaccgtcag ttccactttg gtttgacagc 2400  
acatgatctt cagatacaga agcagttcta ccattaccat gcgcatttgc accacggcgt 2460  
gtgccttttg cgccattgag agagctagaa tcatctctca acctcgaagt cacttcagtg 2520  
tcgttcgctg gaaccagagc cagctctctg gtgtcttgag agctcgagtc cagcaagagc 2580  
gggtccttct cgcgcgagtt g 2601

&lt;211&gt; 1333

&lt;212&gt; DNA

<213> *Oryza sativa* L.

&lt;223&gt; PCR marker G2155 MwoI

&lt;400&gt; 21

```

ccctctgctt gatccagtgt acatccatgg gttaggacag attagttact cagttaatta    60
agtgtgagac tggaaaaaaaa tatctgacgg cagttttata agttgagtga ttgaactagt    120
gaaagttcag ttaactgica acggctgtag atttgggatg gcagactgtt ctgagtcaaa    180
atgaagcitt tactgtgcgt ggttaccagg tgcagtaaaa taatttcaga tctaattcga    240
gtaaaaaaaa gtagtaciatt atgttaagac gagattggtc ggtcaaaatc tatctggccc    300
tttacaatct ccaaatgtta cctcagttgc aggtggtaaa aaaaaatcac tcgtttcagc    360
tgatgtcggc agatcatgga ccatgtcica aatgctgaaa ctctgaacaa tcaacaaaaa    420
aatccaacca gatgagcigt gcaacigata attgatcatt acactatttg caactcaict    480
ttcatgtaga tggaaactica atcccgaaga aataatgaca gcaaaatgct gcgatcctga    540
agaaaggatg gcggcaaaat ggcagcgata aaaaaaaaaat ggttggttac tgaagaatta    600
tttgtgcagc agttgagaca gtagcaagat aagagctagc taagctagct aggtagagtt    660
ggatggaaga gtagtagtat gagatagagc atggagcgcg acaactcaag tggatgctaa    720
agtaaaaggc attctcttct ctgttttggg atcagaaaag aaaagaaaag acttgagctg    780
cttggcttga atgttttggtt ggatcatgcg cgctctcctt agcttagctc gccaaagaaat    840
cctcgcttca tctctctcaa taattcaaag ccacgagctc tctgctcata tccagtgcga    900
cgattcccgt taatgcaaat gcattataat cagttcgaaa tgttacaatt ctgtcgtttg    960
cagcaagcca gcaagtgggt tgaattgttt aatccctcgt gcatttcaac gaaattctct   1020
cacaaattcg cattgacttc tttcttagca caattagtaa gcagtgacaa ataaagaatt   1080
tttgaacagg atgtctttcc aaggaagggt agatttttta tgtggatagc aaggatcgcc   1140
tttcccttagc atgaagagaa tgtgatcaac tttaacacct gcttacgatt atggccctaa   1200
tttttgatac cctaaacagg agcacatcac atgcatgtcg acctgagacc accaattaac   1260
tgattaaagt ggcatctcag atgcatccgt cagttacatg atcaggatgat cgatggatca   1320
actgtagggt tca

```

1333

&lt;210&gt; 22

&lt;211&gt; 863

&lt;212&gt; DNA

<213> *Oryza sativa* L.

&lt;223&gt; PCR marker G291 MspI

&lt;400&gt; 22

```

cgaacaggat caaaagtaga cgacgagggc atttagaagg agaggaattg tatttgttcc 60
cggtatttaa tttttaaatt tgtggtcgga agtttcggaa gaaaaaatgt gctcatgagt 120
gattattggc tctgaacacc aacctctctt ttcgttgatt ccttctgagg tgttgggtgt 180
tgggacacga tgcigccgcc gacacgacac cgggttccac aatacactaa tctactcgcg 240
acaccttcat tgaactgcat ataattatit agaaagtcca ttaacacatc ttataaaacc 300
ttgttgaatc atataatcat tctataaagt ctatttgaac atcittaaga aaaataagat 360
ctgacctagt cgttacactc tcttacattt tccattagcc taactaattc cgtgcaggaa 420
acgccccaaa ataatagtag caatagtcga ctaatccgtt gccagaggcc gccaatgatt 480
agtgaattaa ccaaaaaaca taatcatcat cacacgccgc taatgaccag ctctcgctta 540
gtcatccca caggcggccc ccacacgcca ctccctgccat gtgggcccac ctctcacacc 600
ccccaccaac cagaaaaaaaa actcccccaa aaaaaaaact tttaatgctt atctcgcggc 660
agtataaaag gcgacccccc caccacacac caatcacagt cagcgaccca acccaacccg 720
agccgaggag tcgagtcgtg tgaaaattac gaaattgccc ttcgactcca ccaccaccac 780
ccaccggcga ggcgaggaga ggagaaaaat tgggaggaaa aaaaaaggga aaaagaaaaa 840
gggtggagga gatttttgcg aag 863

```

&lt;210&gt; 23

&lt;211&gt; 1510

&lt;212&gt; DNA

<213> *Oryza sativa* L.

&lt;223&gt; PCR marker R2303 BslI

&lt;400&gt; 23

```

tgccatgaag acctatggaa agaataatctt ctctcactc tgtgaatggg gagtttactc 60

```

tcctgtaacat ttagggctag gtcgaaggaa catgaagcat tgctgattca ciccactgtg 120  
tttttttttt ctgtataggg ggaaagaaaa tcctgctaca tgggcaggcc gcatgggtaa 180  
cagctggaga acaactggcg acatcgccga caactggggc aggttctact catcctctct 240  
ttaaccctgt ttacatagtt cttagagttt tcagtaactga tcgtaattgc cctgttattt 300  
cagtaigaca tctcgtgcag acgaaaatga ccaatgggct gcctaigctg gacctggtgg 360  
atggaatggt aagaactiga gatgtatctg ttccctaggtt gcttaacat ttgagagctt 420  
caaaatgata aacataatgt tctgctgtgc aataatcagat cctgacatgc ttgaagtggg 480  
aaatgggtggg atgtctgaag ctgagtaccg gtcacacttc agtatctggg cactagcaaa 540  
ggtaccatag catgttctat gtactaataa ttttgcctga atgttgaact tctttgcatt 600  
tcctcactgc aagttttgct tgaattgttc aggctcctct ttgatcgga tgcgatgtgc 660  
gctcaatgag ccagcagacg aagaacatac tcagcaactc ggaggtagtc gctgtcaacc 720  
aaggcaagcc ttctcagttt cacatgttta gatttagcca taccctcttg atatttcacc 780  
atactcataa tgtaactctc tgaacagata gtctagggtg ccaaggaaag aaagtaaat 840  
ctgacaacgg attgaggta tcccttcaat ggcttccaaa ttgacagttt ctcatgttcc 900  
cataagccit ggcatgatca tgactaactc tgaagctgac aatactttgt gtaaatltgt 960  
cggtaggttt gggccgggccc actcagcaac aacaggaagg ctgtggtgct ctggaacagg 1020  
cagtcatacc aggcaaccat cactgcacat tggctgaaca tcgggctcgc tggatcggtc 1080  
gcggtcactg ctctgatct atgggcggta aagccittgc ttctctcaga gctcaaagta 1140  
gaacatcttc tcttcagaat tcagagttca taacaaattt ctgtcaattg tgcagcactc 1200  
ttcgttcgcg gctcaggac agataatcagc atcgggtggcg cctcatgact gcaagatgta 1260  
tgtcttgaca ccaactagt cagcaaagaa aagcagcaca ggttagtacg tgtccggcga 1320  
atacagctaa attgatcagg attcaggaag aaggtttgca atttgcaagg attggtagag 1380  
ctggaaatgg gatgccattt ggttaatgtat gtagaaataa gctgtaagcc tgaagcgta 1440  
tatgtaatca gccgtcaaat gctggcgagt gtatttctga agtttgcaac gaaagttgca 1500  
gcaataaaaa 1510

<210> 24

<211> 1016

<212> DNA

<213> Oryza sativa L.

<223> PCR marker BstUI

<400> 24

```

tggggattct tttctttaag caatttaaca ttattgtcct aacaatatac acaatatitgg    60
ttttcttttc agtatcaaat aattctttta cttttgaaaa cacatttgca atgtgttgga    120
aacacaatta tatcttgcac ttccitttgg aaatttaatc atttgaaaac tgattcgcgt    180
ttcatggctg taatcttcic ttgcgaacat cgctctttct ttgatggttc tctgttgaga    240
agaagagcaa ccaagtaaat tticgaaatg ttttttgttt ctttctattc accattgcag    300
gttgtcaaag ccatcgagaa ggccataccg attccgagag cgcaacccat tgccttggat    360
ggcccagcaa gggaagagct gaaggccatg gaggcgcaga aggtcgagat cgaccgcacc    420
gcggcgctcc aggtgcgccg tgagctttgg ctggggctgg catacctcgt cgtccagact    480
gccggcttca tgaggctcac attctgggag ctctcatggg atgtcatgga acccatctgc    540
ttctatgtga cctccatgta cttcattggc ggctacacct tcttccctccg gaccaagaag    600
gagccctcct tcgagggctt cticgagagc cggttcgcgg cgaagcagaa gcggttgatg    660
cacgcccggg atttcgatct ccgccggtat gacgagctcc ggcgagcctg tggcctgccg    720
gigtgtcgga ctccgacgag cccctgcaga ccgtcgtcgt cgtcgtcgtc gtcttcgacg    780
caggagagcc attgccattc ttactgccat tgccaatgat ctttgtgctg ttctgttctg    840
ttgtcagaat tttttcatgc ccagtttatg ggggttaagc tagcttctcc attgtaccgt    900
tctgatgtgc ggatgatgcg atgcaaagca tagtttgttg aagagatgac aaggcagatt    960
ttagcttgaa aacctggagg tgagaaaaaa aaatcctgat gtgttttgtgt gtgtga    1016

```

<210> 25

<211> 676

<212> DNA

<213> Oryza sativa L.

<223> PCR marker S10602 KpnI

<400> 25

```

accaccitca tatgaagaaa ttaacgggtgt tticatgagg aatccaacag tcgctgaatt    60
ggtggaaact gtggaattct tcttggctga ggtaaccaat catcacttca ccacaatgca    120

```

caagtttgta gcttactact acagtacttc taataagttt tgtctgttga gattttattg 180  
 ctgattticta tgcattggta tctttttgac aggccatcca gtcttatcgt gctgagagtg 240  
 aaactgagci caacctggca gctgggtgact atatagtgtt ccggaaggta cggccctatc 300  
 ttcccatlgg acatgtttct aaccataaac atatctttgc tggacttttg tgggcaaagt 360  
 tggctacact aaacttgtgt tcattaacct gctcaatcag gtgtcaaaca atggatgggc 420  
 agaaggigaa tgcagaggga aagctggctg gtcccttac gactacatcg agaaaaggga 480  
 ccgtgtgctt gcaagtaaag tcgcccagggt cttctaggcg ttcaatgagc catacataca 540  
 taacctgggt gtgttacact gtattatgat cgttcgtgat cttcaaagac cctctgatca 600  
 gagaaatcac aaatattctt ttgttctatt attgtcatta tcactacccc ttttgtcaaa 660  
 accagtcgag cctttt 676

<210> 26

<211> 1059

<212> DNA

<213> *Oryza sativa* L.

<223> PCR marker Tsp509I

<400> 26

gcgagatcat gaacttgatt ttctgggtgc catattgggc ttgcttgta accitgtaga 60  
 gaaggatagc cttaatatgtt aagtccttca catgtcttct tccatttgct caattcata 120  
 cagtgttact gtcttggcag ttccctgggg tcaggactca gaaacatcca attaatgttc 180  
 atgttctctt aacgactcag aaatacttta taacctctcc acagggtacg gctttcatct 240  
 gcccggtgtc ctgttgatct atctcagaat ccacagagtg aagagacaca gagagatgtc 300  
 atagcactcc tcgtttctgt attcttagca agtcaagggt ctagtgaagc ttctggaact 360  
 atatcaccgg taattcaaaa ttcttcaagt tccctttgta tgtagattat atctttgtaa 420  
 aactcggcat ttattacctg ctctttgttt caaaaagcag tattttattt tgctccttag 480  
 cataggtcag cagaacagtt gatcttattc agaaaacaat attttgcatg taacatactg 540  
 ttatctatga gatgaaaatt aatgcatgtg taataatgtc aatgataaat atttgctatc 600  
 tgaatccagt ctaccaactc tagtiagacc gaattactga ggltctatct caaagaataa 660  
 ttiagtcgac calttgttca actactatga agtaaaatgg tatcccttc tattgacatc 720

gggttagaag tgaaggcca tcttaatgcg atgttctcaa tgccacaaac ccacaaattt 780  
 cattaacaca tacagattat tattaacata gctataaatt ggatttccag aagcttgagt 840  
 tgaatttatt ttgttacaat tgaagcact gggaacatta gcattttttt ttagttcttg 900  
 gtatttgcaa ttataatgt tatacagaac tgtgtacctc acaatgcatt cattatgaca 960  
 ttctatgaac catttgattg actgttgctt gtaaacaaca ggatgatgag gagtctttga 1020  
 tgcaaggagc acgggaagct gaaatgatga tcgtagagg 1059

<210> 27

<211> 76363

<212> DNA

<213> Orza sativa IR24

<400> 27

gatcaactaa caacctcttt gcagcaaaaa agcatacaca caagtgtttg tcttggcctg 60  
 gggctctgca gatggactga tactctgacc tgcagtgggc ttgggagcta acaatggttt 120  
 cattctttttt tttttatgt ttccctgt tgttttgcct catgttttgt glaatttttt 180  
 cttctcatct agcgaigtta ttttcttag catgatggga gtagccctcc ttttttttc 240  
 tctaattaag tglaaagtag caacagcata gggatgaatg ttcagtgtag tgtgtggtgt 300  
 ttcagttatt cagagacgtc catacagttt gtacctgtg accacacgtc ttaatctgat 360  
 gaagcttaga ataaatcaca tgttagcaat gcaatatcat ctgcgtcttc tctcactttg 420  
 gtggccaatca aattcttgtt agaagtgtat ggttggigtg ctgttgcaaa tgccgtattc 480  
 cgctctgttt tgtggaagtt aagaagtcct tagttgaaat accgattttt catgatctcg 540  
 gagattgatg caactctgat tgcagcattt ctttttatta gaatgtacac tccatgctat 600  
 catgatgttt attgtttagt actacaagat ttggttaacc attattttta tatcataata 660  
 attttataaa atcttggagt aacaagtcca taatacatga tagcataact ttttgaggct 720  
 agtctaigta tattgtctcc ttgtttttta aactaagcac tcaataaatt attgatggct 780  
 glaattttct gaaggtttca ccggtttcgg cccgtgcttt ataaatagct tcggcacaaa 840  
 agacaaaacg gtccctccaa cacataaatg gttgagttta cgttttcatt atcttttgta 900  
 aaatcaagtc caccacgtag acactcataa caaaagtttg aatatcctca gaaattttga 960  
 cttagctcta tcttaccttt gatatcgac atccaaccct ccttccctcc ctgaacttta 1020



tattattcat attacacctg aactttatata tattcatatt acacccctgaa gtggttttca 1080  
tttaattgca tacatgctga aatagtttga caacgtgaga tgcactaaaa atctacacgt 1140  
tcgtcttaag ttgcaattca ttttataccct tttctttttc tctcttacat aggaatatca 1200  
atagtactaa ttcacattac aatatagtat aaattggtaa tcgattattg gcaatatact 1260  
atattaaata ttcaaaacta gtcatttaag ctgccaaata agtaaaccac tatcgaaaac 1320  
cacaataata atggcattac aaaacttagg gggttgaata tccaatttta aagttcatga 1380  
tgctagagga atttctatca aaagtttatg ggtacataig gactttttcc tttttaaaag 1440  
aagctattct tgcgtlaaac gttaaataatt ttttgtactt tttttttat gattgaaaaa 1500  
aaaacttagt ttcaaaaatg attggctcgt atacaagcat caattagact taataaatc 1560  
atctaacagt ttccctggcag aaactgtaat ttgtttttgt tattagacta cgtttattat 1620  
ttcaaataig tgtacgtata tctgatgiga caaccaaac caaaaatitt ccctaactcc 1680  
atgaggccct acagatata ttgatgggtg taaagttttt taagttcttt gggtgcaaag 1740  
tttttaaagt atacggacac acatttgaag tattaaatat agacaaataa caaacatat 1800  
tacatatctt gccctgtaaac aacgagacaa atttattaag cctaattaat ctgicattag 1860  
caaacgttta ctgcagcatc acattgicaa atcatagcgt aattaggctc aaaaatatc 1920  
gtctcgtaat ttacatgcaa actigtgtaat tggttttttt ttctgcaaca ttttaatactc 1980  
catgcatgtc caaatatttg atgcgatctt ttggccaaa ttttgttggga atctaaacaa 2040  
ggatcaaatt tgcitgaatt ttccagacgt caggccttgt tcatccatcg ttgcacgcg 2100  
gattcgccac cgacgccttg gtttccaacg aattttatca tccgcttaaa tacatccaaa 2160  
gtcttccatc gccatcggcg gccaacggcg accgctccgc tctacccaat ccacccatcc 2220  
actcgccgcc gccccctgat ccaaagcctc cgccgcgccg ccgtcgagag gaggaggagg 2280  
aggaggagga ggaggcgtga gcccctatgg ggaccctcct ccggccgcgt ccgcttgccc 2340  
acgccgccgg cgccggcgac gccacgccgt cgaccgcgca cggtagccac gcgccctctg 2400  
agaggcccc ccccccgcc gctcgctgat ctctctctc atcctgtttg ggtttgggtt 2460  
tgtgatttgg gtgttttttt tttttccgca gcggtgggtg tgagcgggtg ccgcggccgt 2520  
ggcgtggagt gccagccgca tcgggtgcgc cgccgcccgg gtccgcaggt tgcggtggcg 2580  
acggcgagct ggaggaggcg gagggagacc gtggtgagat cggatttcgc cgctgggtgt 2640  
gccgctacca tgggggattc gccgcaggcg ctctcaggtt tgcagccctc tccactctct 2700  
tctcgcaaaa tgtgttgcta tgttcctctc gctgggcctg cctcatagcc attaatgtag 2760

tttgctggaa cattacattc ggaacgttgt tggcaattgc ttgacaaaat gtggaattgt 2820  
ggaggggaga aaaatcgitt gaacctgcag tgacaaaatt gccatctata attttaaac 2880  
tgaagggtgt gaaatcaaac ataatcattg ccagcacatc attcttgtta accaccttga 2940  
cataatgttg gcttataaca gttagctcca caccaacttg gaagggtgtc atggaatgt 3000  
agtataaatt gaggataact ggcagttgtt aagactttct acagaacttg tagcagctaa 3060  
aactagctat tgtgcattta tgtttcatgg aatttgagcg gcaatggata tttcttacta 3120  
agacgtataa tgcaaaaaaa aaaaaaaac tatgtctatg cagtttacct gtaatgtgcg 3180  
gaigcaaata aaatcatgtt catggacaaa ctaatgggat tcataccaaa ttccagaatt 3240  
gcatttctta tgtggttact ttgttttgtt gatttgggtta ccagacatcg atgtggtttc 3300  
aagggtcaga ggggtttgtc tctacgcggt gactgcagtt gcagcaatct tttgtttgt 3360  
cgccatgggt gtggttcatc cacttgtgct cctatttgac cgataccgga ggagagctca 3420  
gcactacatt gcaaagattt gggcaactct gacaatttcc atgttctaca agcttgacgt 3480  
cgagggaatg gagaacctgc caccgaatag tagccctgct gtctatgttg cgaaccatca 3540  
gagtttcttg gatactata ccttctaac tctaggaagg tgtttcaagt ttataagcaa 3600  
gacaagtata ttatgttcc caattatgg atgggcaatg tatctcttag gagtaattcc 3660  
tttgcggcgt atggacagca ggagccagct ggtatggctg tagtctcatc cctgctttct 3720  
taagtagaca tatatacatt tacagtattt ggtaaataaa caagatttta tgaatcata 3780  
atgattttgg ggaaaacaca aaactctctt tgttggctgc cttgaacata gttctgttca 3840  
cacagttata gcaccttctt taaaatgaag aactttgttg catacacata aggccaaacc 3900  
acataatgaa ttttgtttat ttctatcttt gaatgttagc atcgtttttg tttaatgcat 3960  
gatcgccctc ctatataatt gtagtatgtc aacattgtat tccatgctga gcataacaaa 4020  
tggtttgtta aaattcagga ctgtcttaaa cggigtgttg atttggtgaa aaaaggagca 4080  
tctgtatatt tctttccaga ggggactaga agcaaagatg gaaagctagg tgcatttaag 4140  
gttcagtaac caaacttagg ttacattaca tctaalgaga tttttatatt cagtataata 4200  
tgttaacctt ctcatgggtg actgacgttg ttataaatgt cccagagag gtgcattcag 4260  
tgtggctaca aagaccggtg ctccgtgat acciattact ctctcggga cagggaact 4320  
gatgccttct ggaatggaag gcatccitaa ttcaggttca gtaaagctca ttattacca 4380  
tccaattgaa gggaatgatg ctgagaaatt atgttctgaa gcaaggaagg tgatagctga 4440  
cactcttatt ctaaacggtt atggagtgc ctaaagaaag atggtgtttt tttttattat 4500

atggaacctt ttcaaaggca cagacaggct ttcaaaggcta agcttggttac aggtactgat 4560  
actagttact aatttactttc gtaatcagta taaataagct tgtgtagtgt aatggcattg 4620  
tacatttctg cacttggtaa atttacagaa gaggcaagta atattttaga ggattgagtt 4680  
tattcaccca gtcatatagt tgaagaggca agtaacctgt aagagaggac tgaacattaa 4740  
caccctctgt tcatataaaa atgaccaaag agcatcaaac atgtattcga ggctgttact 4800  
ttagataagg cccatttaatt tgttttagttg tctatgtaca tcttagttgg tgtaaatgcc 4860  
agttaccatt tctatgatct aaaacaatca actcttttag tatattttca aaaacgaaat 4920  
tcagtlacaca tgtatgaatc ttaatatctt tctctagctc gttacaaaag caacaaaggc 4980  
accgltcag ctgggttcaca ttagctagtt tgtacttagc attatccact agcaccttat 5040  
tttcatgcat atcatgctaa ttigtctgcc cacttgagt gggaattttt ttcattgttt 5100  
ataatttata tatgttttag acttctagtc cacaatttat gtacttcatg ttcttgagcc 5160  
tctagtatgg ctgatagcag actagggtgt gagtgcgtgc cttttttgca gactgaagag 5220  
agaagaaata caagactgtc cattgttagt cagatttgta aaaatagact ctgatgtagt 5280  
ttacttttgc cccattttta tttttaacaa tacaatatata taacagatcc taagaactta 5340  
tcttaattta ggagaagttg ctctgttcat taaattaaat tgtgaagtaa aaatgtgtgc 5400  
tcgagctgt caatgcaatc ctgtgttctt gtttgaagat atgggttagg gcaggccagg 5460  
attgaacact gaatggtaag actgcttctg ccttcagacg ttattgctaa atttttagct 5520  
acttgcagtt agtgcgtcca cgccgattaa gcagtagaac aaagtagttt tgtcgtgcac 5580  
aaatgagtta tatttcattg gaaatcgaag cgaaaacgaa tcaaaagtta gaagaaaagg 5640  
ggaaacttgg taattactcc ataaagagag tgcattttat tggtaagatg gtatccggaa 5700  
gctgtgagct ccgggctgta tgtattctgg caaatttgat atgagatgct cgattattgg 5760  
cttaagttag cgatatcaaa ttgggggaag caccaaagga attatttgtga aggagttatg 5820  
gggtgcgtgac gttatctgct aggttcaaat ccttgtggct atgaatatat atctgctagg 5880  
ttcaaatect agtgactatg aatatataat ggtaaggtaa gggatttatt gtttaatttt 5940  
gtttctttta gatttgcca tcggacgcca ttccgtaact gtaataatgc ttgtatttgg 6000  
attcacttgt gttacatgca cgcactaaac atgtgcttta ccttttcatc tgtttttgcg 6060  
ttctgggcta gaaactcaaa cgttgaattt tccatggctt gctcaacttg acaattactg 6120  
cgtgtcaagc gatcttatac gcatactaig cgcacaagtg attgtatagc gatatgatga 6180  
cagtataacg tgtgatattg atttttttaa taaaaaatg atgttcattt ccttgatgaa 6240

ggaacaaaga ctttttttaa aagaagggtta ttactaaaaa caaaaatgac aaaaacaaaa 6300  
tatcagtgca catggcaagt gtgctcggca attttttctc tgtactttta aaaaaaatac 6360  
ttctatatgt tcttttttat aagggtggca caaatctttt aaatgagcca aatattctaca 6420  
ttggatttat taaaaactgt ataaattata atttatactc tgaaaggltg tgtgcatctc 6480  
tcttggagaa aatgtataag ttgcaaaca acaattaatcc acgttatgta acttttttctc 6540  
gccggaaagg ccgaaggagg ccigacggag cgtggggctc ctaccggga gaccgcgcag 6600  
gcccccttt gccggttcgg ccggggactc agggtgaaat tctaagctct ctgtatgtgg 6660  
aagggtcgcg accgtcgaaa gagcataaga cacgggcgat gtatacaggt tggggccgct 6720  
gagaagcgta ataccctact cctgtgtttt gggggatctg tgtatgaagg agctacaaag 6780  
tatgagccag cctctccctt gtcttgggtt ccgaatctgg aaaagtcag tccagtcctc 6840  
ccctctaagt gggcaaggct ctccttttat atcttaaggg gataccacat gcaccatctc 6900  
cctctttct gtggagactt accctacctt ttcataaatg gacggagatt tgtatagttg 6960  
ccgtccgaat gaccttctga taggacggcc catacctacc tccacttccg ccgaaagcag 7020  
gtgcgacgtg ggattatggc tgtctgtctg cgacatgacc agtgcagac tggtcacaaa 7080  
ttgtctatc ctgtccacca cgcgtcagtt tagcaatcta catgttggcc ctctctcaca 7140  
caacatcttg cctgtaatgg ttaggatgaa gcctggcata tatctaacca ggactaacgt 7200  
gccatctcta ggaggtaaca cgctagctcc agctggggac gagcgccctag aagccctcgt 7260  
cctgacggga tggggcgagg cgtgcgtcag atcgccgtgc gccacctaac ctgcgatctg 7320  
accggtctgt gactgggtcac agaccggata aacgagtgc ctcacttcg ttacatgcag 7380  
cgtgacacgc tcagccaaac cgcaataaat gtggttaggt gagccccgct gtgctcacct 7440  
aaccataca cgcggagcaa aaaccacga ggggtcgggg cgcctcggcc ctgggggccc 7500  
aggcgggtgc ggtccgaccc cctcgggggg actaagagga gggcgaacac atcacccctc 7560  
ggcccgacgt ccccgagggt tggcaggcca cgtgggcgat tgtgtctgcc tcaaacctct 7620  
agtcatgata ctcttgatcc catgtcaccg acagtagccc ccggcgttat gccagggcga 7680  
tcgcccctct taagggaagc ggtcgggcgt gacgccactc ctaaggccctg gtgacaggtg 7740  
ggaccggctt ccacaattgg gcagaaacc aacggtcaca aatcacgcac atcggcaatg 7800  
gtaactctac tatcaataat gacgggtctc ttcaagactg ccacattact cgagtagcac 7860  
acgaatctgg acatggcgat tcttttcgtc tggagataig glaacgtcgc ttgggtcggc 7920  
gagcgtaatt aacgcgcgca cgatatgata tatctcgact gccacaaccg catatccacc 7980

tcatgcgccg caagcgggcg aatgggatta gtggaagcgt gggcgcgaga aacgaggggg 8040  
cgaaatagtg ggcgcgagaa gcgaggagcc gggcacagcg ttggcaagag tataaaggca 8100  
ctgaggaaag gatctgttct cttcctttctg ccatcatctt ccttgtcttc gccgcttgcg 8160  
ccctaactcc ttctttcctg tgccttactt tgcacacacg cgctcgctct caatcttctc 8220  
ttcctccggc gccatggcac ggggtccgc tctgctcgat ggtagcgtgc tgccgccttc 8280  
ccgcatcgtg agcgagaggc aggctgggct gccgcgccgc tcatgcccgg aatctgccac 8340  
cggccgggag atagtcacgc tgggcgaggg acgcccgcg ccagactacc cggggcggtc 8400  
cgtcttcttt cttccctttg caatggcagg gctggttccg ccattttctt ctttcttcat 8460  
ggaigtcttg aagtcttacg atctccagat ggcgcacctc accccaacg cggtagtgac 8520  
attggccatc ttgcgcacac tgtgcgagat gtcatatggg gtgcgcccac ctcttcggct 8580  
gttccggttg ttcttcaccg tgcagtcggt gtgcgcccca tcggtagtgt gtggctgcta 8640  
cttccagcca cgggggcccgg tgcgtaatcg ctacatcccc tgcgcccctc gcaagaagtg 8700  
ggacgactgg aagagcgact ggttctacac cccctcgcg gacgaagcgc gcctccgact 8760  
tccgagccag ccccggcgc aggctccag ctggcgggcg ccggtagatc tgggggatgg 8820  
ctatgacgcc gtcttcgacc gcctggcggg cttacgatcc caggggctca cagggacat 8880  
ggtgtacggc gactacctcc gtgctcggtt tgcgccgtc cagcggcgcg ctccgggcg 8940  
ctgggagtac accgggtccg aagactacat gaggaccac cagggagtca gatgggactg 9000  
ggctcctgag gatttcaaga tagtgggtcca acgggtgctg aatctcaact ccatggaggc 9060  
gtccctcatc cccaaggaa tcttccctct ctgcagcgat ccagaccgcg cttccatctt 9120  
gaccattatg acggcggtcg gggctcaga ggagttagct ccaaagggcc acgacggcgc 9180  
aggcgggagc cgtagggggg atcaatctac ccggggaggg ggtcgtgctt ctgggtctcg 9240  
cgacggaggc ccgaggagca gccgccctgc cgacgcccg gggaagagga agcagggagg 9300  
aacacctccc ccatctctc cccgaggggg cggggcggtg cgtgccagca gcaggcgccc 9360  
ggagggggcc gcgccgacat cgcagccga gggggagcgc aagaagaagc ggctccgcaa 9420  
gatgggggag acagaacat ctccaggaaa ctttatctc cttctaaagt ggtcgtttta 9480  
ccgaccccc ctgcaggttcg tctctcacc atcgtggctg tattcatct ctcaacgcga 9540  
gttttcact acccatcttg ttctcttctt ggtctttct tctgtttcag cgagatcccg 9600  
tcgctccct cccgccatt caagtccggc cagtctgagg ccgaggatcc ggcggccgca 9660  
gaggccccga ggcgggaatc tgaccggcga gaggccgcg atcgccctac ggaagccgag 9720

gaggccgccc aggaggccgc ccgggctcgc caggctcagg aaaccgctcg ggaggaggcc 9780  
gcccgggccc gccaggccga ggaagccgct cgggaggagg ccgcccgagc ccaccaggcc 9840  
gaggaagccg ctccggagaa agccggattt cgccaggacg aggcaatggc gacttccgag 9900  
gcagctcgcg atgaggctgc gggcgcgtcg cttagagcca cticctcggg cgacgctcag 9960  
gcgacaactt ccggggcagc tggcgacgag gctgcgggcg cgtcgtttgg gccactccc 10020  
tcaggcgacg cccaggacca accaggctcg aggacatcc ctgagtcgg cacttccatc 10080  
ggcggccccga gccgcgtggc atcctctcca aggcggctct tccccacgcc ttctatcgcc 10140  
ccactgagcg cagagcccci tctgcaggcc ttggccgccc caaacaccgc ggtgttggac 10200  
gggcttagtg cccaggctga ggccttcaa gcagagtggg cggagctcga cgccgcgtgg 10260  
gcgcatgtcg aggaggggcg gcgctcagtg gaggccatgg tggaggtggg ccgcaaggca 10320  
caccgccggc atgtctcgga gcttgaagcc cgtaagaagg tgttggcgga aatcgccaag 10380  
gaagtggagg aggagcgggg ggctgcccic attgccacca gcgtgatgaa cgaggcgcag 10440  
gacaccctcc gccttcaata cgggagcttg gaggcggagc tagggaaaaa gctcgacacc 10500  
gcccaggggg tgcttgacgc tggcgctgcc cgagaacagc gggcggggga gaccgaagcg 10560  
gcgtcccgac ggcgcggaaga gacctttgag gcgcgcgcca tggcgctgga agagcgcgcc 10620  
tgcgtcgttg agagggatct ggccggaccgc gaggcggccg tcactatccg ggaggcaaca 10680  
ctggcggcgc acgagtcgc ctgtgccga gaggagtcg cactccgctt ccacgaggac 10740  
gcgctcaccg agcgggagcg agctctcgag gaggcggagg ccgcggcgca acggctggcg 10800  
gacagcctgt cctccgcga ggcagcgag gaggagcagg cgcccgccac tctggaatgt 10860  
gtccgcgccc agaggaccgc actgaaccag caggccgctg acctcgaggc gcgggagaag 10920  
gagctggacg cgagggcgcg cagcgacggg gcggctgcgg gcgaaaacga cttagccgcc 10980  
cgctctgctg ctgccgaaca taccatcgcc gatctgcagg gcgcgctaaa ctctccgcc 11040  
ggggaggctc aggccctccg cttaggcaggc gaggtagggc ccggcatgct ttgggacgcc 11100  
gtctcccgcc tagatcgcg cggtcggcag gtgggcctct ggagagggcg gaccgtaaag 11160  
tacgccgcca accatggagg cctcgcccag cgctctcga agatggccag ggctctccaa 11220  
cggtccccg aggagctcga gaagacaait aagtcacct cgagggacct cgcccaagga 11280  
gcggtggagc tcttactggc gatttaccag gccagggacc ccaatttctc tccatggatg 11340  
gcgctggatg agttccctcc tgggaccgag gacagcgcg gcgcaggctc gggatgccgc 11400  
cgaccataic gtccacagct tcgagggtc agccctcgg ctgcgttcg cccccaactc 11460

cgacgaggag gacaatgccg gtgggtgcaga cgacagtgac gatgaggccg gcgacccggg 11520  
cgtaicggat tgatccccc agccccgcc attcttttagt tttttcttct tttctttctt 11580  
ctaaggccct cgggcctctt ttttgtatag atcaacttaa tctgtaatca aaaatgaaga 11640  
aatllltlgig tcaatttcat ctigctgtgt glatgagatg aggatgatct gtgacgttgt 11700  
cctllltgcgt cttagcttga ttaagggctc gtgcccagggt cccagtcctc aaaaggcgtg 11760  
ggicgggggt agtgccctggg gagatccaca tgtcgagact ggccaggccg ggaacgttgt 11820  
gaccgagggt tatgggtgac ccgattgtgg gttllltgccg attccccccc ggagttcacc 11880  
acgccccggg gcacggctcg gticgtgggc ccgtlltgccg attlltagccg acccgagccc 11940  
ccgagggcag gattgagcac gattgacctt tttcaagtca agattcttca aaaggaaaaa 12000  
aaaacacaga tacagccctt aggaaattga aactgccttt attgaaatac tgaaataaga 12060  
gaaataagaa tgtgcatgtg tggcagcccc cggccaacgc tgcacgcccg agggggtgctg 12120  
gggttggccc gagcccgaaa cctgacaccc gacccccccc tcaggggtag aagcgacgaa 12180  
ggtgttctgat gtccacggg ttaggcagct caatgccgtc gcccggtggc agccgtatgg 12240  
agcccgcccg ggggacgccc accactcgat acggaccctc ccacattggt gagagcttgc 12300  
tcaatccagc acgcgtttgg acgcggcgta ggacgaggct gtcgacgcag agtgatcggg 12360  
cccggacgtg acgctgatgg tagcgccgca ggctctgctg gttagcgcgcg gctctgaggg 12420  
ccgcgcgccg ccttcgctct tccaagtagt cgaggctatc tctgcgaagt tgatcttgat 12480  
cagcctcgca gtacatgggt gcccgaggag acctcagggt gagctcggtt gggagaaccg 12540  
cttcgcgccg gtagacgagg aagaaaggcg tttccccgtt tgcctggctt ggtgtagtct 12600  
ggttggccca gagcaccgct agcaactcct cgatccatga atcgctgtgc tttctgagta 12660  
tgttgaagggt ctgggtttta aggcctttga ggatttctga attggcgcg cccacttggc 12720  
catgtcttct ggggttggca ggtgaggcga agcagagctt gatgcccatg tcttcgcagt 12780  
agtcgccgaa gatttacta gtgaattggg tgccattatc cgtaataata cggttaggca 12840  
ctccaaaccg ggccgtgatg cctttaatga atttaagtgc ggagtgttta tcgatcttga 12900  
cgaccggata agcctcgggc cacttagtga actgtctgat cgcgacatac agatactcaa 12960  
accgccccgg ggcccgccca aacggtccca ggatctcgag cccctagaca gcaaatggcc 13020  
acgaaagtgg tatggcttgc agggcctggg ccggctgatg gatttgcctg gcgtggaatt 13080  
gacacgtctt acatcgccgg accaggctga ccgcattcatt gagagctgtc ggccaataga 13140  
aaccttggcg aaaagcttta ccaaccaagg tgcgcgaggc ggagtgggct ccgcattcgc 13200

cttcatggat atcggcaaga agcacaacgc ctgttcccg aggaatgcac ttcaggagga 13260  
ttccattagc cgcgcgccga tagagggtcc ctctaccag cacgtagcgt ttggagatgc 13320  
gatggacgcg ttacttccct tcgcggctct cgggtaaagt ctatctgtg aggtatgctt 13380  
ggatctcggc aatccaagca atcaatctaa gggagctggg agcgtcccc tcgggtcccg 13440  
aggcctggac ttcgacgggc ctccggggcc ggtcaggcgc gtccgtctcc cctaaggggt 13500  
cgggtcgcgc cgacggctgg gcaagccttt ctcaaaggc gcccggtggg gtctgggctc 13560  
gcgtggacgc gagccgtgag agttcgtcgg caatcatgtt atcccgctcg ggcacatgcc 13620  
gaagctcaat cccgtcaaaa tggcgtccca tacgccgtac ttggcgcacg taggcgtcca 13680  
tctcgggtc agagcaccgg tactccttac agacttgggt aacgaccagc tgggagtcgc 13740  
ctaaccaccag gagcgccggc atccccagtc cagctgccac tctgagtcgg gcaaggagtc 13800  
cctcgtactc tgccatattg ttagtcgctc gaaagtcgag gcggaccaag tatctgagga 13860  
cgtctccgtc cggagaggtc aacgtgacct ccgcaccggc gccctgaaga gacagggagc 13920  
cgtcgaactg cattaccag tggcggtgtg gaggcagctg cgagggggtcc gtgctggcct 13980  
cggggattga gacgggctcg ggagccgggg tccactctgc cacaaaatcg gcgagagcct 14040  
ggctcttgat agcgtgacgt ggttcaaagt gcaaatcgaa ctcagaaagt tcgattgccc 14100  
atttaccac ccgtccigta cctctcgtat tatgcaagat ttgaccgagg gggtaagacg 14160  
taaccacagt gaccgatgc gcctggaaat aatggcgcag ttctctcgag gccatcagaa 14220  
tagcgtaaag catcttctgg gcctgagggt atcgggtttt ggcgtcccg agggcctcac 14280  
taacaaagta gacgggccgc tgcaccttc ggtggggccg atcctcttcg ctaggggccg 14340  
catccctggg gcactcttcg tccaagcagc ctccgggggc gcacttgtct tctgtgtga 14400  
tgacctcggg gtcggaggat aacaggggcg gccttccac agtggctttg gggccgtcct 14460  
gggggtcagg ggctccctggc gtcgtcggac aagcgggcaa agggccaact ccggtcgtca 14520  
ggggcccttag gcctccgttc ggctcggggg cctcttctcc ctgctcttc ccgggtcgag 14580  
tcagcacagg gttagcctcg ggttcaaagg gcgatagggt cggccttccc acagtggcct 14640  
cagggccttc ctgggggtcg ggggtccta gcaccgtctg acaagcgggc agagggccaa 14700  
ctccggctgt cgggggcctc aggccaccgt tcggctcggg ggctctctct cctgtctctc 14760  
tcccgggcca agtcggcaca ggttggggaa gcgcgaaatg agaattatcc tcatcgcgct 14820  
ccacaaccaa tgccgcacta actacttgcg ggttcgccgc taagtagagt agcaagggt 14880  
cgtctggctc cggggcgacc ataactgggg gagagcttag atacgccttc aactgggtga 14940



gggcattttc agcttccctc gtccaggtaa acgggtccgga gcgtttgaga agcttaaata 15000  
agggtaacgc cttctctccc agcctcgata tgaaccgact tagggcggcc atgcaaccgg 15060  
tgacgtattg cacatcccta agtttgctgg ggggcgcatc cgctctatag cccgtatctt 15120  
ctcgggggtg gccicaatgc cccgggcaga gaccaagaac ccgagaagct tgcgcgagg 15180  
tacaccgaac acacacttat cgggggtttaa ttttatgcgg gcggagcgga gactctcaaa 15240  
agtttccgct agatctaiga gtaacgtttc ctgggtgcgc gtctttacaa ccaagtcac 15300  
gacataagcc tcaataattac gtcctaattg gctaccgaaa gaaattcgag tagtacgttg 15360  
aaaagtagga cctgcattct ttaacccgaa gggcattgtc gtataacaat aggttccctat 15420  
gggggtaatg aacgcagttt ttccctcacc ctccctagcc atgcgaatct gatggtaacc 15480  
agagtatgca tctagaaaac acaaaaggtc gcaccccgca gtggagtcga caatctgac 15540  
tatgcgaggc agggggtaag gatccttagg acatgccttg ttaaggtcgg tglagtcgat 15600  
gcacatccga agcttgccgt tcgccttggg aacgaccacc ggggttcgcca gccactcggc 15660  
gggggtgacg ctgccatcat atttttcggc gatgggtggc cggaaccttg ggggccaacg 15720  
gacattccga agactcgcca caaaggctct acagccgaca ccaccaaccg ggggcacgga 15780  
gggctgattc ccgcgtccgt gttgaggtga cactctggac gaggaagcgc cctccgttgc 15840  
gtgggcagca ctccggicat tacgccggcg ctcgatgctg gtgcgggctt ccggcccccc 15900  
acgcagatct ttctgggtcg aaggagtcga cgaaggagtgc gcggccgaat ggccaacagc 15960  
ggctgcccgt cgtcgtgccc tccgtcttga cgacgcggag ccggtggtag cagcaccaga 16020  
ggccttgggtg gcggaggacc gccaccagc atctaggcgc tgccgtgccg tcatgactaa 16080  
tttggccacg tcgtccagcc atcgttgggc tggagactcc gggtcaggga cgacaggcgg 16140  
gtgacgtaag agcgcgcccc cagcttggag cgcgccctgg ggcgtgctgc cgtcgccgta 16200  
gacgaggagg cgacgctccc catctcgccg ttcttctcca tcgcccgcga tcggtgaagt 16260  
cgcggatctt tcgacctctt cgagcgccct ccccgcctta ggactttggc atggaggagg 16320  
cggltggagta cgagctcgac ggcgtgggtt cggctccccg tcgtcgccac tcacactcgg 16380  
agagaggctg tgcgcctttg ctgtctcggc catcaggctg aacaggaaaa gcttggcgca 16440  
cacggaagag tacgagagct cagaaaaaca cacactgagt cccctacctg gcgcgccaga 16500  
tgacggagcg tggggctcct caccgggaga ccgcgcaggc ccccttttgc cggttcggcc 16560  
ggggactcaa ggtgaaaatt taagctctct gtaigtggaa ggtttgcgac cgtcgaaaga 16620  
gcataagaca cgggcgatgt atacaggctc gggccgctga gaagcgtaat accctactcc 16680

tgtgttttgg gggatctgtg tatgaaggag ctacaaagta tgagccagcc tctcccttgt 16740  
tctgggttcc gaatctggaa aagtcagtc cagtcagtc cccccctcta agtgggcaag 16800  
gtcctccttt tatatcttaa ggggatacca catgcacat ctcctcctt tctgtggaga 16860  
cttaccctat ctttccataa atggacggag atttgtatag ttgccgtccg aatgaccttc 16920  
tgataggacg gcccatacct acctccactt ccgccgaaag caggtagcag gtgggattat 16980  
ggctgtctgc tgacgacatg accagigtca gactggtcac aaatigtca ttccgttcca 17040  
ccacgcgtca gtttagcaat ctacatgttg gcccttcttc acacaacatc ttgccgttaa 17100  
tggttaggat gaagcctggc atatatctaa ccaggactaa cgtgccatct ctaggaggta 17160  
acacgctagc tccagctggg gacgagcgcc tagaaacct cgtccgtgac ggatggggcg 17220  
aggcgtgcgt cagatcgctt gtcgccacct aaccgcgat ctgaccggtc tgtgactggt 17280  
cacagaccgg ataaacgagt gcactgcact tcgttacatg cggcgtgaca cgctcagcca 17340  
aaccacaata aatgtggtta ggtgagcccc gctgtgtca cctaaccat acacgcggag 17400  
caaaaacca cgaggggtcg gggcgccctc gccctcgggg ccgaggcggg tgcggtccga 17460  
ccccctcggg gggactaaga ggaggcgaa cacatcacc tcgggcccga cgtccccga 17520  
gggtgccagg ccacgtgggc gatgtgtct gccctaaacc tctagtcag atactcctga 17580  
tcccatgtca ccgacaaggc catccgaatg tattaaggag taaaagttac aagaaaaaac 17640  
accataatgc accaatgtgc atgaccacac accatacact accccaagc acaaaccact 17700  
gagggtgaag cctagcacca aacgaccgcc actaagtgtg accaaacgcc gctaggccta 17760  
cggcagcaac acatagatga gacttcgaaa acgatgccac caaggtggtc acgacatcta 17820  
ggatgctgcc atcgtccatc taaaaagatg tggttttcac ccagagaaac tcatcaagaa 17880  
ggggagaggg taacccttga cagcgcccca aggaggttac gacgcccga ggcgtagccg 17940  
ctgccggtcc ggtgaaccac cggactaggc ttccgcctag gacctatag ccttgatcgc 18000  
agatcaccgt ccaccactca gaaccaccac acagacaaaa ggtagcacgt agcttccacc 18060  
acaccgcacc gacgccccit cgtcggccga ctccatcgaa ccacatccc tgagagctgg 18120  
cccaggacce ctccgttcca ccaccgccc gccgccttgc cagtittggc caaaggagaa 18180  
cccgggactg ggtgacattg cttcggcagc ctgagcttcc ccgctggcg agctgctgtc 18240  
tcaatccaac ctagaaactc cccgcaaaaag aaggggatga gctctaggaa gggcgagggt 18300  
gccgaccggc aacgaggaag acaaccatc gactccagct cctttgcac taccatctgg 18360  
ccctgcgcca atgccggata cgtgtcgtc ccggciccgg cgccaccac ctgcaccccc 18420

tttgccctgggt ctccgcgccc ctccctggctg cgtcgcgcccg cccagctggc cgctaagggc 18480  
accgcgacgg ccgcccggct accgaggcct ggccgcgcca tgggacagct cgcgcctggca 18540  
ccagcgagcc acggccgtcg cgcctgttgc ggccgacagc agcacaaccg ccagctccaa 18600  
gggcccagca tgcacatgag ccgcccggcg tgcgcccgg gccggctgca cgtcaccggc 18660  
gcacacgacc gcacgcccgc acgctccgc tccgcgcccg aggcagcccc atgccattgc 18720  
cgcgcaccct gcccgcccgc tgcgagccg ccaccgcga ccttgcctgag ccgccaccgc 18780  
cgtccctagc cgccctgtgc cgccgccacg ccagatccag gcgcgggatg gccggatccg 18840  
gccctggggg cgccggatcc accgccctcc cacaccgcca cggcgctacc acctccgacc 18900  
gcagtgaggg ctctgtctgt tgcctcatcc tcatcgcgtc gaggaggaag acgccaagaa 18960  
aaaagggcct cgccgctgcc ttccctgtct gctgccggct tcgcccggg cgagctccgg 19020  
cggcggcgag gtgggggaga agaagtgggg agtgggcagc tagggttttt tcgccccca 19080  
agccgcccgt gcgagagcga cggtaggggg gggggggact ttccaacctc ttccagtgtt 19140  
ctagtcttcc acgttatgta actcaatttg tttaaccata gaaagtaaga aacctaccag 19200  
cgtgttaagc tctctttcat tccctttctt ctccctgggt ttgcttccat cacatgtcaa 19260  
gtgaagggtt cttaactacc attactccta cacatctaata ttttttctca gatctttcgc 19320  
aggatatata tgatgtctaca ttttatgata ttaagataat ctccctcaca ttacctctg 19380  
ctgaaacttt agcttgaacc gtcacttca ccacaatttg agcccaattt gcacagagca 19440  
caacgagcaa tagcttgccc ttacgttcat tathtagcat gaactactac taactacca 19500  
agaatcaata caccggitta ataacgcat ttatcacgt taatatatgt ttcatccaac 19560  
acaccggtt tggcacagtt gcaaaacttg aataaattct ttccctactc tccatcccat 19620  
aatataacaa attgggtatgt ctgccttgggt actaagttac tatattatga gatggaggga 19680  
gcacttcttt tcttccaaaa tataagaata tagtattgga ttagatatta tctagattca 19740  
cgaaticgat taggttgtct agatttatag ttglatgtaa tgtataattc ggtaataggt 19800  
tattacctct caggatggag ggagtagttt tgactttttt tttcttataa atcgctttga 19860  
tttttatatt agtcaaatit tatcgagttt aactaagttt atagaaaaaa attagcaaca 19920  
tttaagcacc acactagttt cattaaattt agcatggaat atattttgat aatatatttg 19980  
ttctgtgtta aaaatgctgc tatatttttc tataaacgta gtcaaatita aataagttag 20040  
actaaaaaaaa atcaaaacga ctataatat gaaatggagg aagtagtaga ctataacaaa 20100  
tttaaaccgt gctttgattt tagagcatca ctaatatgtt agcaataatc tatccctaaa 20160

atttattttt ttccctaaac tgaaaatagg aagtggaaat actcctccat ctaagagaga 20220  
gcctaaattc aataaaaaac laaaaaacta aagggtgata cctctattaa actaccgcaa 20280  
aaaatttatg ttttttttct ctccacgcg cgcagaacag atatctcgat caagttagca 20340  
tgtaaaatit ttaaagagat accctatacg actccttccg tatttccaaa agcaaacgga 20400  
tttaaaatct gactcaaata aagatctata tatccaatit acatgacaca tgtttcgccg 20460  
aatitttata ttaataataa ttaatatit taaaattaaa ttattagcaa ttgttttga 20520  
ggatttatca aaacaggatg gacgttgtit ataacagcgt ctagacctag acgcgcttgc 20580  
aaactgcggc caccctittt tcaacaaaat ttgtgacaat ttgacactit ccaaaaatta 20640  
atittataaa ttaaccgtga ccaaaactta tttaaaaaatg atctttttgt tgagcgcaaa 20700  
atcgtatact tcagcgccaa atagcacggc gccgaccicc ccttccctt cccctctatc 20760  
ctccactgtc gccgcccacc tctccgtatc agctgcgtcg cgttgggttc cgccggcgct 20820  
gctgctgctg caccagtcgc ctaggcgggc cgggcatggc gcgccgcgcc gcttcccgcg 20880  
tccgcgccgg cgctgttggc gcccttcgtc cggagggctc gacccaaggc cgagggggcc 20940  
gcacggggggc cagtggcgcc gaggacgcac gccacgtgtt cgacgaatig ctccggcgctg 21000  
gcagggggcg ctcgatctac ggcttgaact gcgccctcgc cgacgtcgcg cgtcacagcc 21060  
ccgcggccgc cgtgttccgc tacaaccgca tggcccgagc cggcgccgac gaggtaactc 21120  
ccaacttgtg cacttacggc attctcatcg gtctctgtc ctgcgcgggc cgcttggacc 21180  
tcggtttcgc ggcttgggc aatgtcatia agaagggaat tagagtggat gccatcgctt 21240  
tactctctc gtcaagggc ctctgtgtc acaagaggac gagcgacgca atggacatag 21300  
tgctccgcag aatgaccag ctggcgctga taccaaaagt cttctctac aatatcttc 21360  
tcaaggggct gtgtgatgag aacagaagcc aagaagctc cgagctgctc caaatgatgc 21420  
ctgatgatgg aggtgactgc ccacctgat tgggttcgta taccactgtc atcaatggct 21480  
tcttcaagga gggggatctg gacaaagctt acggtacata ccatgaaatg ctggaccggg 21540  
ggattttacc aaatgttgtt acctacaact ctattatigc tgcgttatgc aaggctcaag 21600  
ctatggacaa agccatggag gtacttacca gcatgggtta gaatgggtgc atgcctaatt 21660  
gcaggacgta taatagtatc gtgcatgggt attgtcttc agggcagccg aaagaggcta 21720  
ttggatttct caaaaagatg cacagtgatg gtgtcgaacc agatgtgtt acttataact 21780  
cgctcatgga ttatctttgc aagaacggaa gatgcacgga agctagaaag atgttcgatt 21840  
ctatgaccaa gaggggacct aagcctgaaa ttactaccta tggtaacctg ctacaggggt 21900

atgctaccaa aggagccctt gttgagatgc atggctctctt ggatttgaatg gtacgaaacg 21960  
gtatccaccc taatcattat gttttcagca ttctaataatg tgcatacgct aaacaaggga 22020  
aagtagatca ggcaatgcct gtgttcagca aaatgaggca gcaaggattg aatccggata 22080  
cagtgcacta tggaaacagtt ataggcatac ttltgcaagtc aggagagta gaagatgcta 22140  
tgcgttatctt tgagcagatg atcgaatgaaa gactaagccc tggcaacatt gtttataact 22200  
ccctaattca tagtctctgt atcttttgaca aatgggacaa ggctaaagag ttaattcttg 22260  
aaatgttggg tgcaggcatc tgtctggaca ctatcttctt taattcaata attgacagtc 22320  
attgcaaaga agggagggtt atagaatctg aaaaactctt tgacctgatg gtacgtattg 22380  
gtgtgaagcc caatatcatt acgtacagta ctctcatcga tggatatgtc ttggcaggta 22440  
agatggatga agcaacgaag ttacttgcca gcatggctctc agttggaatg aaacctgatt 22500  
gtgttacata taatactttg attaatggct actgtaaaaat tagcaggatg gaagatgcgt 22560  
tagttctttt tagggagatg gagagcagtg gtgttagtcc tgatattatt acgtataata 22620  
taattctgca aggtttatctt caaaccagaa gaactgctgc tgcaaaagaa ctctatgtcg 22680  
ggattaccga aagtggaaac cagcttgaac ttagcacata caacataatc cticattgggc 22740  
tttgcaaaaa caatctcact gacgaggcac ttcgaaatgtt tcagaacctt tgtttgacgg 22800  
atttacagct ggagactagg acttttaaca ttatgattgg tgcattgctt aaagtggca 22860  
gaaatgatga agccaaggat ttgtttgcag ctctctcggc taacggttta gtgccagatg 22920  
ttaggacctt cagtttaatg gcagaaaatc ttatagagca ggggttgcta gaagaattgg 22980  
atgatctatt tctttcaatg gaggagaatg gctgtactgc caactccgc atgctaaatt 23040  
ccattgttag gaaactgtta cagaggggtg atataaccag ggctggcact tacctgttca 23100  
tgattgatga gaagcactc tccctcgaag catccactgc ttccttgttt ttagatcttt 23160  
tgtctggggg aaaatatcaa gaatatcata ggtttctccc tgaaaaatat aagtccttta 23220  
tagaatcttt gagctgctga agccttttgc agctttgaaa ttctgtgttg gatttctttt 23280  
ctcctacagt cgtattagag gagggatctt ctctttatgt gtaaataagcg aggtatgtat 23340  
gtcacctctc cgaattatct ttactctggg tccctagacgg taaacaagca attatgttct 23400  
gcccttgatg ccagaaaaaa cacaaaagtt tgtcgttatc tctactaacg gatcataaag 23460  
gaatttgtaa ctggagtctc aaacttaatt tgtctaggca gtagtttttg cattagatcc 23520  
aacattgtgt aggtatcatt tgtgtgtatc aatctatagg gtttcattaa atttcgttta 23580  
tgtgtactgt ttaggtgttg aatagtgtga ctgtttttt aactgaacaa aagatactga 23640

aatcgttcca ttcaacaaac acatgttccg ttaaigaaat tattgtacgt taccttttgt 23700  
tttcttactc acaagtgtcc tcttttctta tatcctatag attggtacaa caaattattg 23760  
attcaatttt gggtttgaac attgaigatc ctccctgcac tattggtgca gctgctcttc 23820  
tattcatttt gtgaagtgat gtgagtacct ctcaatccca tctttatgct tctgtgcatg 23880  
cttcattcca attttttacg catactgatt gttttctttt atataacagt ccataaagat 23940  
aatcacatca tgacaaagtt atttatttct acagtatagt tatataagta ttcaccagtt 24000  
ttccatgaat attttggcat gtgattacaa agaagattat ttgagaaaaat ccatgcittt 24060  
atttcacat tttgtttgaa gttgaacttt aatttatggt glaaatttca gttattattg 24120  
ctagcagctc gtactcttta atgggtataac ttcacttgig cttattctcc aatatctccc 24180  
ttcttgttgt tcaggttcaa gaaaatcatt tgttggattc agaacttgggt gtccattttc 24240  
ttcttaaaat attaaatcct ccagtgaatc ttgttgattc caaagcacca tcgatagggt 24300  
ccaaacttct tggaatcagt aaagtacaaa tgcttaatgg atcaaataag gattctgact 24360  
gcatttcaga ggaaatcctt tcaaaagttg aagagattct cttagctgt caagtgaica 24420  
agtcgctcga caaagatgac aagaaaacaa caaggccaga actgtgtcca aagtggcttg 24480  
ctttgttgac aatggaaaaat gcatgcttgt ctgctgtttc agtagagggt aagttttaat 24540  
caaatttctt ggtcatgatt tccctttatg accattatat ttatttata gagccaaata 24600  
agcagttgtc aacttgtcat aagttacata gcacctattt gcaatattca tgggtgggtt 24660  
gcttagccct tttcttcacc tgcitttgat tgatgacttc catctgtgtt gcagaattga 24720  
attggagtag tggactgcac tagaagcacc tatggccatt gtcatactag gaaggttttc 24780  
ccttatcaaa tatttgattg ttacagagac ttctgacaca gtgtccagag ttggaggaaa 24840  
ttttaagag acattaaagg agatgggagg tcttgatagt atttttgacg ttatgggtgga 24900  
tttcatcca acattggaga tgagatctcg ctaacatcgc atattttaca tttcctttgt 24960  
tcaactctaa tagattgtgc aggcttgttc cttttcgcca ttttagcttt aatgcgcttg 25020  
aagccacatg aaagttaatgc ttgtccagat acatagccaa aggttggtat attttggggc 25080  
atggaaaatg cttgaggtag taactatttt catcaggaca tggaaaatg gctgcaacac 25140  
aaattatgtt gttttatgtt gcaaaaatag ttttttaata cttttttatt ctgcatgtgg 25200  
tgttagtata ttacagttcc tctgatgatt atatcccca cgataataac acttgaaacg 25260  
alaataacac ttgacataatc tacaccaagt gaacattatt catttggatg ttacttttcc 25320  
agctatactt gctgttcttg catgtgtaag caagtttggga glaaattgcg catlaattta 25380

aatgcttggg gticctatct gtgtactttt tattccccaa ctaataatgc aatcatatta 25440  
cgctgataaa ctgaataaat aaatttaacaa tatacttctg gttggcaaacc ttgtgtatca 25500  
gaatctcata aaggatacat ccacttcagc ttltggaccga aatgaaggaa catctttgca 25560  
aagtgcctgct ctccctcttga aatgtttgaa aatattggaa aatgccatat ttctaagcga 25620  
tgataacaag gtaatgctcc ttatatgttc tgtttcagtt tagtacctat ttcccttctc 25680  
tgtactatct tctctcctga ttgttctgt gcaaaatgtg caaacagtgc gactttgtat 25740  
gtctgcttaa caattttctt ttcttccga aaaagcaata tgaactctta cattcatttt 25800  
gcttcttgca gaccatttg cttaatatga gttagaaaatt gaaccgaaa cgctccctgc 25860  
tttcttttgt tgggtgcatt atcaatacta ttgagttatt atcaggtatt ttctttaata 25920  
atacaatgtg ttgcctaaca caataaaatg ttttaaacat ccagtatgtt aaagttgcag 25980  
cttgacgctt attttgtttt gctgcagctc ttccaatact tcagaattct tctgttgttt 26040  
ccagcctac atatccgaaa tegtctaaag tctctcaaca gagttactct ggtaataaca 26100  
aacaccaatt ttgtttgatc agttgatctc gttggctttt ctatgcactg tctcaatata 26160  
gtttggctgc cattcaagtc tcactacaga tgttgaactt ggcctgacac caaatattta 26220  
taaaatgcta cctgatattt ttaatatctc atgtttccig acccagattt tcttgttggg 26280  
tctctgtata agtttaatta gtgacattct tgaagctttg ttatgcagca gatgtcatgg 26340  
ggggaacttc atttaatgat ggaaagagca agaactcgaa aaaaaaaaaac tttgtcgaa 26400  
ccagacacgt catgtttgct tatcttcaaa atcagaagtt tctcatatta ctatatcttc 26460  
tggtagtgat gcgtgtctgt cacagaaggc attcaattgt tctccattta tatcaagcaa 26520  
tggggcatca agtggttcat taggcgagag gcacagcaat ggtagtgggt tgaagttgaa 26580  
tataaaaaag gatcgtggca atgcaaatcc aattagaggc tcaactggat ggatttcaat 26640  
aagagcgcac agttctgatg ggaactccag agaaatggca aaaagactcc gtctatctta 26700  
aaatgtaatc accgacagtg gtgggtggga tgaccctttt gcatttgacc gccgcgtcgg 26760  
cgctgccacc acgtaatcgc ccacgtcgtt gcccccgctg ccacgtcgtc gaccgcgcac 26820  
gglaatcaca cgcatctcga ggccgccgtt agctgataat ttctcatccg gtgtatttgt 26880  
gattttggcg tttttgcagt ggtgatggcg gggggcgacc gtggccgagg cgtggagtgc 26940  
catccgcatc aggggtgtaat ggccgcgtc ctccgcccgt gtccgcaggc ttltggcggcg 27000  
agctggcggc ggaggagac tgtggtgaga tcggatttct ccgctgggtg tgtcgtacc 27060  
atgggggatt cgccgcaggc gctctcaggt ttgcagctc ctccactctc ttcccttttt 27120

tatTTTTTTt tctcgcaaaa tgtgttTga tgttcgtctc gctgggctgg cctcatagcc 27180  
attaatgtag ttTgctggaa catTTacatt TggaacgtTg ttggcaattg cttTacaAAA 27240  
TgtTgaattg Tggaggggag aaaaatcatt TgaaccTgca gTgacaaaat Tgccatctct 27300  
aatTTTaaaa ctgaaggTgt ggaaatcaaa cataatcatt gccagcgcat catTctTgtt 27360  
aaccaccatg atatatTgtt ggtTataaca gTtagctcca caccaacctt gaaggTgtca 27420  
atagaatgtt tagTataaat Tgaggagaac aggcagTgtt taagactTtc taaagaactt 27480  
gtagcagcta atactagcta ttTgtcattt gTgtTtcatg gaattTgagc agcaatggat 27540  
attTctTact aagatgtatg atgcaaaaaca aaaaactatg tctatacagt ttacatgtaa 27600  
TgtTcggatg caaataaaaT catgtacatg gacaaaactca Tgggattcat accgaattcc 27660  
agaattgcat ttctTatTgt gTtactTttg ttgtTgattt ggTtaccaga catcgatgtg 27720  
attTcaaggg Tcagaggggt ttgctTctac gcggTggctg cagTtgcagc aatctTttTg 27780  
ttTgtcgcca TggtTgtTgt Tcatccactt gTgctcctat ttgaccgata ccggaggaga 27840  
gtTcaggaaa aaaattTgaa aataccctt ttTtgaaaaa gatTtacgtt tatatacact 27900  
agtatgaaga attTgcgaaa atataactaa Tccgcagatc ggTtatgcgg gagcgcaaca 27960  
aaagtatggc gTggcggcgc ggagTggacg gccgaggcgt Tcgcgcgga Tggggctgcg 28020  
ggaccgagcc agTctcgctt gccggtaacg cggaaccgt acgctccgc agcgccagt 28080  
Tcggaaccg cggcgccaac attTTTTtac Tgcatggcac TgtgtTtaT actgtTtgac 28140  
actgtTtctg gtactgtTtt acacagTtcc cgggtcagtt ccgcacaatg gaggcgcggc 28200  
accgaccatg aacaatgtgt gaacagTgt gcacagggtt aaaacagTgt ataaactgcg 28260  
ctgcacagt TtgagTgc Tggccactgc ggtTccgcgt ttTggaaccg cgggaccgtc 28320  
gcgattccgc gTttTggagc Tgccggacca TgacggTtcc gcgcaggatc gTcggTcccg 28380  
tatTTTgaat ctgcggaacc gTcgctgtcc cgcgtTtcca ttTcgcgga Tcggtatatt 28440  
ttTataaaac ctctccaTgc atgtatataa acataaatta ttgaaaaaT aagtatattt 28500  
gcaaattttt ttcgagagct cagcactaca ttgcaaagat ttgggcaact ctgacaattt 28560  
ccatgtTcta caagctTgac gTcgaggga Tggagaacct gccaccgaat agtagccctg 28620  
ctaTctaTgt Tgcgaaccat cagagTtttt TggataTcta TaccctTcta actctaaggaa 28680  
ggTgtTtcaa gTttataagc aagacaagta tatTTatgtt ccgaattatt Tgatgggcaa 28740  
Tgtatctctt aggagTaat cctTtgcggc gTatggacag caggagccag ctggTatggc 28800  
TgtagTctca Tccctgcttt ctTaaTga catatatgca attacagaat ttggTaaaca 28860



aacaagattt tatgaatcat atatgatttt ggggaaaaca ccaaactctc ttggtggct 28920  
gccttgaaca tagttctatt cacacagtta tagcaccttc tttaaaatga agaactttgt 28980  
tgcatacaca tatggccaaa ccacataatg aattttgttt atttctatct ttgaatgtta 29040  
gcaccttatt ttcattgata tcatgctaatt ttgcttgccc acgttgagtg ggaatttttt 29100  
tccatgtttt ataatttata tatgttctag acttctagtc cacaatttat ctacttcattg 29160  
ttcctgagcc tctagtatgg ctggtagcag actaggtgct gagtgctgic catTTTTgca 29220  
gactgaagag aggagaaata caggactgic cgttgttagt cagatttgta aaaatagact 29280  
ctgatgtagt ttatttttagc cctatttita tatttaacaa tacaatatata taacgtatcc 29340  
taagaactta tcgtaatita ggagaagltg ctcttttcat taaattaaac tgtgaagtaa 29400  
aaatgtgtgc tcgagtcgt caatgcaatc ctgtgttctt gtttgaagat atgggtgtagg 29460  
gcaggctagg atcgaacact gaatggtaag actgcttctg ccttcatttg tgcacttgg 29520  
gctgccacgc cgattaaagca gtagaacaaa glaattttgt cgtgcacaaa tgagttatat 29580  
ttcattgaaa atcgaagtga aaatgaacca aaagatagaa gaaaagggga aacttggtaa 29640  
ttatatactc cacaattita ttggttaagat ttgatattag acgctcgatt acttggctta 29700  
agttaaggat atcaaatttg gggaagcacc aaaggaatta ttgtgaagga gttgtgggtg 29760  
cataacgtta tctactagtt caaatcctag tgactatgaa tattaatgag taaggtaagg 29820  
gatttatgtt taatttttagt ttctttaaga ttgtgtccga gtacaccatt cggttaagtgt 29880  
aataatgttt tgtattggat tcaatttgtt tacgtgcatg tgcttttacc ttttcatttg 29940  
tttctgcgtt ctgggtatga atttgacgag attccatggt cagctcaaca tatcagttac 30000  
tgctgtgcaa gcgacttat atggtatgcg cacaagcgat tgtatacgga tatgacagta 30060  
taaigtigta tattgatagc atgttccctt cttttataaa ggaacaaaga ctttttttaa 30120  
aaaaagaagg ggtattacta aaaacaaaa tgtcaaaaac aaaatatcag tgcacatggc 30180  
aagtgtgcac gagcaatagc ttgcccttac gticattatt tagcatgtac tactactaac 30240  
tacgcaaaaa tcaattcacc gattattaaa ctgttaacat cattttagca cgttaacata 30300  
tgtttcattc aacacaccgg ttttggcaca tttaaaaact tgcaaagttg caatactccc 30360  
ttcgttacat agcataagag attttagggt aatgtgacac atctatccaa attcattata 30420  
ctagaatgta tcaccgcctc cagccggga gggagagcgc cgccggtgga gaaaggggga 30480  
gggagtggic gaggggaacc agtaggggtc cctccccgic gccgcciccc cgtggccgcg 30540  
ccggcgagac aggaggaaga gggggagatg gagcggcgcc gccggtgagg gcgcgcgtgc 30600

gcggggggggg ggggggggga gcggcgacgc cggtgaggaa gggaagggga gtggtggcct 30660  
tgagagagat aggggagagg gaaaatgatt ttagagttag gggttgggct gctgagtttt 30720  
tataatagatc gggatcaatc aggaccgtcc atcagatcgg acaactacgg ttctctccgc 30780  
gttgggcccgg gtgccactcc taggttgccc aactattgg gccacatgia cgctccgcgt 30840  
gaaataagtt cactttaggt cctttaagtt gcctctgaat tgttcccagg ccggccgcac 30900  
tatitgggcca ccccataggc catgtgtacg ctccgcacag aataatttcg ctttagctcc 30960  
cttaatttgi cccctcaaac ttctaaaacc agtgcaaate tttaattttt agttcaccca 31020  
ttgcaactca cgggcatatt tgctagtac atataataig aaacgaagga tgtagcagac 31080  
tatagaattt aaactgtgct ttcattttag agcatcacia actgtttatt agatttttat 31140  
ttaaataaat gcagaaatga tgtttttatt atgaaaatta gcaataaagc tcccaaaatt 31200  
tcaaaaaaaaa attaaaagag atttattaat catggttaat ttaattaaaa attaaatcia 31260  
accatatcat attatttcac ggtccgtgat gaggaaatgg cagctgctat cacttatggt 31320  
gggagagaag gggcatigt tttttttata actatctctt ataactccca tgaactata 31380  
aaataaatat aatcattatc ataacattag tttttttcca ttgcaacgca agggtaat 31440  
ttcagtacaa taaaaaaaaa aaagtgggcc attctgaacg gaaatttctg gttttttt 31500  
ccaagagcgc cgcacacaac tgcgcaagag atcgatcgcg atcacctgc tctctgccga 31560  
tctctacac catccctgcc atctccttcc cctccactgg ctgctgctgc acctgtcagc 31620  
tagggcgggc atggcgcgcc gcgcccgttc ccgctgtgt ggcgcccttc gctcggagg 31680  
ctcgatccaa gggcgagggg gccgcgcggg gggcagtggc ggtggcgcg aggacgcacg 31740  
ccacgtgttc gacgaattgc tccgtcgtgg cataccagat gtcttctctt acaatatct 31800  
tctcaacggg ctgtgtgatg agaacagaag ccaagaagct ctcgagctac tgcacataat 31860  
ggctgatgat ggaggtgact gccacctga tgtgtgtctg tacagcaccg tcatcaatgg 31920  
cttcttcaag gagggggatc tggacaaaac ttacagtaca tacaatgaaa tgcctgacca 31980  
gaggatttct ccaaatgttg tgacctaca cttctattatt gctgcgtat gcaaggctca 32040  
aacgttgac aaggccatgg aggtacttac caccatgggt aagagtgggt tcatgcctga 32100  
ttgcatgaca tataatagta ttgtgcatgg gttttgtct ttagggcagc cgaaagaggc 32160  
tatgttatit ctcaaaaaga tgcgcagtga tgggtgtcgaa ccagatgttg ttacttataa 32220  
ctcgtcatg gattatcttt gcaagaacgg aagatgcacg gaagcaagaa agatttttga 32280  
ttctatgacc aagaggggccc taaagcctga aattactacc tatgggtacc tgcctcagg 32340

gtaigctacc aaaggagccc ttgttgagat gcatggctctc ttggatttga tggtagcaaa 32400  
cggatccac cctaatacatt atgttttcag cattctagta tggcatcacg ctaaacaaga 32460  
gaaagtagaa gaggcaatgc ttgtgttcag caaaatgagg cagcaaggat tgaatccgaa 32520  
tgcagtgcag tatggagcag ttataggcat actttgcaag tcaggcagag tagaagatgc 32580  
tatgctttat tttagcaga tgaatgatga aggactaagc cctggcaaca ttgtttataa 32640  
ctccctaatt catggtttgt gcacctgtaa caaatgggag agagctgaag agttaattct 32700  
tgaaatgttg gatcgaggca tctgtctgaa cactattttc tttaattcaa taattgacag 32760  
tcattgcaaa gaaggaggagg ttatagaatc tgaaaaactc tttagaccga tggtagctat 32820  
tgggtggaag cccgataatca ttacgtacag tactctcact gatggatatt gcttggcagg 32880  
taagatggat gaagcaacga agttacttgc cagcatggct tcagttggaa tgaaacctga 32940  
ttgtgttaca tatagtactt tgattaatgg ctactgtaaa attagcagga tgaagatgc 33000  
gttagttctt tttagggaga tggagagcag tgggtttagt cctgatatta ttacgtataa 33060  
tataattctg caaggtttat ttcaaaccag aagaactgct gctgcaaaag aactctatgt 33120  
cgggattacc aaaagtggaa ggcagcttga acttagcaca tacaacataa tccttcattg 33180  
actttgcaaa aacaaactca ctgatgatgc acttcggatg tticagaacc tatgtttgat 33240  
ggatttgaag cttagaggcta ggactttcaa cattatgatt gatgcattgc ttaaagttag 33300  
cagaaatgat gaagccaagg atttgtttgt tgccttctcg tctaaccggtt tagtgccgaa 33360  
ttattggacg tacaggttga tggctgaaaa tattatagga caggggttgc tagaagaatt 33420  
ggatcaactc ttcttttcaa tggaggacaa tggctgtact gttagactctg gcatgctaaa 33480  
tttcattgtt aggggaactgt tgcagagagg tgagataacc agggctggca cttaccttc 33540  
catgattgat gagaagcact ttccctcga agcatccact gcttccttgt ttatagatct 33600  
ttgtctggg ggaaaatatc aagaatatca tagatttctc cctgaaaaat acaagtcctt 33660  
tatagaatct ttgagctgct gaagcatttt gcagcttga aattcttgtt tggatttctt 33720  
ttctcctaca gtccgattag aggagggatc ttctctgtat gtgtaaatag cgaggatgt 33780  
atgtcaccctc tccgaattat tttagctgtg gtccctggac tglaaacaag ctattatctt 33840  
ctgggtgtga tgccagaaaa aacacaaaag ttgtctgtta tctctactaa cgatcataa 33900  
aggggttgtt aactggagtt tcaaacttaa ggtatctagg cagtaggtat atattgatcc 33960  
tacatcttat gatcttaaga tgataatctt ctattatcc tctgtgaaa ctttagcttg 34020  
aacgtcact tacaccacaa tttagagccc ttagcacaga gcacaacgag caatagcttg 34080

cccttacgtt cattatlttag catgcactac tactaactac ccaataatca atacatcggt 34140  
tattaaactg ttigtacagi ttaataatgt catlttatca cglttaacata tgtttcattc 34200  
aacaccacac cggttttggc acagttgcaa acttgcaata acatlttttac tacttctccg 34260  
ccccataata taacaatctc gtccataact atattgctat attacaggat ggatgaagta 34320  
cttcttttct tccaaaatat agaactctag tactagatta gatattatlt ggattcacga 34380  
atttgattag gctgtctaga ttigtatgtc tatgtaatgt ctaattcggt aataggltat 34440  
taccttttg gatggaggga gtagttltta ttctgtactc cctccgtttc atattataag 34500  
ttgttttgac ttttttctta gtcaaattlt attgagtttg attaaattta tagaaaaaaa 34560  
ttagcaacat ttaagcacca cattagtttc attaaatgta gcatggaata tatltttata 34620  
atatgtttgt tttttattaa aatgctacta tatltttcta taaatgtagt caaattttaa 34680  
gaagtttgat tatgaaaaaa tcaaatgac atataatatg aaactgagga tgtagcagac 34740  
tatagcaaat ttaactatg cttltatltt agagcatcac caaaagatta gcaataatlt 34800  
atccctaaaa ttcaagttlt gggtttctta aactgaaaat aggaagtga aaatcttttc 34860  
cgtccaagag atagcctaaa tcttatctta actaattaaa atattcataa ttttccittc 34920  
gtcacattaa attttcgtcc gtaaatctga ttgaaatcca attggacaat ccaaaaaata 34980  
gagaaaaaga acagaaaaaa taataaaaag cacacaaatc ttatctcaat cccgcgggaa 35040  
gctgccgacg ccgccgaatc cgctcgagcg ccgccgccgc cgctcacggg gaacgatgtc 35100  
gctgctgtcg cagcggtat gggagggcg cgctgccact gcttgggaga taggatatgg 35160  
agagagaagg aaatgtgagg gttagggltta ggtttttccc cgtccgtatc ttacagcgaca 35220  
cggaggcgat ccaagctgtc catcagatcg gacggctcag aatgcctcca tctcggggcc 35280  
gcgcatgctt gatgggccga gggaaggccg gagggtcgaa caaacgcaat caaaggagga 35340  
gttgaggagg gtaaatlaga atttatltgc gggctgagat agtaaatgga ctgaaaatgg 35400  
cccatagaga aattgggaat tttattttaa taaatgttga aaagggtltt atattatcaa 35460  
aattaaaaat taagctccga aaattctaaa aaatattcaa agagcattat taatcatggt 35520  
taatttaata aaaattaaat ccaaccatat catattatlt cacggcgcg ggtaggaaaa 35580  
tgcgagctg ttgtcgttta cggtagggaga gaaggacat tgtltatttc cagaactatc 35640  
ttttataact cccatggaac tttaaaataa atataatcat tattatagca ttagtttttt 35700  
tctgtctltt ttttcccaa gagcgccgcg cagaagagat cgatcgcgat ctccctgccc 35760  
cgacgtcgcc ggccgatctc tcattctctc cagccctgc tctcgccga tctctacac 35820

catccctgcc atctctctct tccctcccc tctatctctc actggtgccg cccacctctc 35880  
cgtataagac aaactgcgtt gcggcggttg ttccgcgcgg cgtgctgct gcacctgtca 35940  
gctagggcag gcatggcgcg ccgcgcgcgt tccgcgcgtg ttggcgccct tcgctcggac 36000  
ggctcgatcc aagggcgagg aggcgcgcgc gggggcagtg gcgccgagga cgcacgccac 36060  
gtgttcgagg aattgctccg gcgtggcagg ggccgctcga tctacggctt gaaccgcgcc 36120  
ctcgccgacg tcgcgcgtca cagccccgcg gccgcgcgtt cccgtacaa ccgcatggcc 36180  
cgagccggcg ccggcaaggt aactcccacc gtgcacacct atggcattct catcggttgc 36240  
tgctgccgcg cgggcgcgtt ggacctcggg ttgcggccct tgggcaatgt cgtcaagaag 36300  
ggatttagag tggaagccat cacccttact cctctgtca agggcctctg tgccgacaag 36360  
aggacgagcg acgcaatgga catagtgcct cgcagaatga ccgagctcag ctgcatgcca 36420  
gatgttttct cctgcacat tcttctcaag ggctctgttg atgagaacag aagccaagaa 36480  
gctctcgagc tgcctcacat gatggctgat gatcgaggag gaggtagcgc acctgatgtg 36540  
gtgtcgtata ccactigcat caatggcttc ttcaaagagg gggattcaga caaagcttac 36600  
agtacatacc atgaaatgct tgatcggagg atttcaccag atgttgtgac ttacagctct 36660  
attattgctg cgttatgcaa gggicaagct atggacaaag ccatggaggt acttaccacg 36720  
atggttaaga atggtgtcat gcctaattgc atgacatata atagtattct gcatggatat 36780  
tgctcttcag agcagccgaa agaggctatt ggatttctca aaaagatgcg cagtatggt 36840  
gtcgaaccag atgttgttac ttataactcg ctcatggatt atctttgcaa gaacggaaga 36900  
tccaccgaag ctagaaagat ttttgattct atgaccaaga ggggcctaga gcctgataat 36960  
gctacctatt gtacctgct tcaggggtat gctaccaaag gagcccttgt tgagatgcat 37020  
gctctcttgg atttgatggt acgaaacggc atccacctg atcatcatgt attcaacatt 37080  
ctaatatgtg catacgttaa acaagagaaa gtatgatgagg caatgcttgt attcagcaaa 37140  
atgaggcagc atggattgaa tccgaatgia gtgacgtatg gagcagttat aggcatatt 37200  
tgcaagtcag gcagtglaga cgatgctatg ctttatittg agcagatgat cgatgaagga 37260  
ctaaccctta acattatgt gtataacctc ctaattcata gtctctgtat ctttgacaaa 37320  
tgggacaagg ctgaagagtt aattcttgaa atgttggtatc gaggcattct tctgaacact 37380  
atfttcttta attcaataat tcacagicat tgcaaagaag ggagggtat agaattctgaa 37440  
aaactcttgg acctgatggt acgtattggt gtgaagccca atgtcattac gtacagtact 37500  
ctcatcgatg gatattgctt ggcaggtaag atggatgaag caacgaagtt actctccagc 37560

atgtttctcag ttggaatgaa acctgattgt gttacatata atactttgat taatggctac 37620  
tgtagagtta gcaggatgga tgacgcattt gctcttttca aagagatggt gagcagtggg 37680  
gttagtccta atattattac gtataacata attctgcaag gtttatttca taccagaaga 37740  
actgctgctg caaaagaact ctatgtcggg attaccaaaa gtggaacgca gcttgaactt 37800  
agcacatata acataatcct lcatgggcct tgcaaaaaca atctcactga cgaggcactt 37860  
cgaatgtttc agaacctatg ttgacggat ttacagctgg agactaggac ttttaacatt 37920  
atgattgggtg cattgcitaa agttggcaga aatgatgaag ccaaggattt gtttgcagct 37980  
ctctcggcta acggtttagt gccagatgtt aggacctaca gtttaatggc agaaaatctt 38040  
atagagcagg ggttgctaga agaattggat gatctatttc ttccaatgga ggagaatggc 38100  
tgtactgcca actcccgcat gctaaattcc attgttagga aactgttaca gaggggtgat 38160  
ataaccaggg ctggcactta cctttccaig attgatgaga agcacttttc cctcgaagca 38220  
tccactgcct ccttgttata gatcttttgt ctgggggaaa atatcaagaa tatcatagat 38280  
ttctccctga aaaatacaag tcctttatag aatcittgag ctgctgaagc attttgcagc 38340  
tttgaatttc tgtgttgga ttcttttctc ctacagtcgg attagaggag ggatcttctc 38400  
tgtatgtgta aatagcgagg tatgtatgtc acctctccga attattttga ctgtggttcc 38460  
tggactgtaa acaagctatt atcttctggt gttgatgcca gaaaaaacac aaaagtittgt 38520  
cgltatctct actaacggat cataaagggg ttigtactg gagtttcaaa ctttaaggat 38580  
ctaggcagta gttttgacat tagatccaac atttgttagt attcatttgt gtgtatcaat 38640  
ctataggggt tcatltaaat tcatlttgtt actgttttagg tgttgaatat attgttttac 38700  
ttgtttttta actgaacaaa agatagctga agctttgttc ttaccaaat gcagtagtga 38760  
tcatcacaat atattttttt acggaacagg agattgtata aaatggtttc catcggcggc 38820  
caacggcgac cgctctgctc tgaccacca cccaatccat ccatccactc gccgccgcc 38880  
ctgatccaag cctccgccgc gcgacagcga cgcaccgccg tcgagaggag gaggcgtgag 38940  
cccatgggg accctccctc ggccgcgtaa tgccgtgca cggtaaccac gcgcctctcg 39000  
aggcctccgc cgctagctga tctcttctca tccgttttgg gtttgggttt gtgatttggg 39060  
tgttttttcc gcagcgggtg tgggtgggtt ggttgcggcg ggagggggcg gtggccgcgg 39120  
ccgtggcggt gagtgccagc tgcatcgggt gcaccgccgc cggggctccgc aggttgttgt 39180  
ggcgacggcg agctgaggag gcggaggag actggtgagg gacacaggca ggcaggctct 39240  
caaggctaag ctgtttacag gtactgagac tagttactaa ttactttgat aatcagtata 39300

aataagcttg tgiagtglaa iggcattigc catttctgca ctigttaaatt ttacagaaga 39360  
tgggtcattca atttgaacct gcattctaata ttttagtggg ttgagtttat tctcccagtc 39420  
acagagtiga agaggcaagt aacctgtaag agaggactga acattaacac ctcttggttcg 39480  
attaaaaatg accaaagagc atcaaacaatg taltcgaggc tgttacttta atalggccca 39540  
ttaatttggt tagttggcta tgtacatcct agttgggtgca gtgttgtgga aaacggaata 39600  
cgggtgtcgg atggacgagg tgcctgcaag cgattaatcg taatacggat gattaaacgg 39660  
aattatatgg atttttggcg ttgcactaa gatgtacata attgatgta atggcaatgg 39720  
tggagacaaa atgcatcatt ttaataaaaa atatttgtat aaatctctaa ctatattatg 39780  
aaaatgccat ttattagttc aatagataatc aacacigtat gtttagtagcg caatagcatt 39840  
gggcttggtta gtcaaaaatag tgcagctggg ctgcaagttg caagtttatg ttagtttcat 39900  
aaacagacat ctgattgtc gataaataac cgactaatcg tgccatacaa ctgtataatt 39960  
actctgaaat agtaatgttg ctccgacttg atgatacggc acggtctggc taccgtttcc 40020  
gttttgacag acgattaaac ggctgtgccc gtcgacttcc acaacactga gttgggtgta 40080  
atgccagtta ccatctctat gatctaaaaa aatcaactct tttagtatat ttcaaaaaac 40140  
gaaaattcag tacacatgca tgaatcttaa tcttcataatc tagctcgta caaaatcaac 40200  
aaaggcaccg tgtcagctgg tgcacattag ctagtctgta cttagcatta tccactagca 40260  
ccttattttc atgcataatc tgcataattg ctgcccacg ttgagtgga atttttttcc 40320  
atgttttata atttatatat gtcttagact tctacttcat gtccctgagc ctctagtatg 40380  
gctggttagca gactagggtc tgaatgctgt ctttttttgc agactgaaga gaggagaaat 40440  
acaagactgt ccgttgttag tcagattgt aaaaatagac actgatgtag ttatattttg 40500  
cccctattti atatttaaca atacaaatat ataacgtatc ctaagaattt atcgtaattt 40560  
aggagaagtt gctcgtttca ttaaatataa ttgggaagta aaaatgtgtg ctcgagtatg 40620  
tcaatgcaat cctgtgttct tgtttgaaga tatgggttag ggcaggccag gattgaacac 40680  
tgaatggtaa gactgcttct gctttcagac gttatgtcta aatttttagc tagttgcaat 40740  
tagtgcgtc acgccgatta agcagtagaa caaagtaatt ttgtcgtgac aaatgagita 40800  
tatltctttg aaaatcgaag cgaaaacgaa ccaaaagata gaagaaaagg gaaacttggt 40860  
aattactcca caaagagaac aaatttatgt glaagatttg atatgagatg ctcgattact 40920  
tggcittaagt taacaatatc aaatttgggg aagcaccaaa agaatttatg tgacttaagt 40980  
taaagatatc aaatttgggg aagcaccaaa ggaatttatg tgatggagtt gtgggtgcat 41040

aacgttat ttt gcttltgtca aatcctagtg actatgaata tgaatattaa tgcgtlaaggt 41100  
aaggaattta ttgttaattt taggttcttt acgatttgtt ccggggacgc cattcggtaa 41160  
ctgtaataat gttttgtatt ggattcactt gttgtacatg cacgcactaa acatgtgctt 41220  
taccttttca tttgtttgtg cgttctgcgt ttgaatttga cgagattcca tggtcagctc 41280  
aacaatgtcag ttactgcgtg tcaagcagtt actgcgtgtc aagcgatctt atatggtaig 41340  
cgcacaagcg attgtatagc gatatgacag tataacgtgt gatattgatt tttttatata 41400  
aaaaaatacg atgttacttt cttcataaaa ggaacaaaga cttttttttt aaaaaaaga 41460  
aggggtatta ctaaaaacaa aaatgtcaaa aacaaaatat cagtgacat ggcaagtgtg 41520  
ctcggcaatt tttgtctgt actttaacaa aaaatatctc tataatggat tttttacaag 41580  
gggtgtcaca atatitttaa ttagccaaac atctgcattt tattaaaaac tgtataaatt 41640  
ataatttata ctctaaaagg ttgtgtacat ctctcttgga gaaaatgtat aagttgcgaa 41700  
caaacattaa tccacgttat ataagtcaat ctgttattta accatagaaa gtaagaaacc 41760  
tactagcgtg ttaagctaag ctctctttca ttctctttct tcttcttggt ttgtcttcaa 41820  
tcacttgtca agtgaagggt tcttaactac catlactcct actcaccaa tttttttctc 41880  
agatctttcg taggtatata ttgatcctac atcttatgat cttaagaiga tatctttctc 41940  
attatctct gctgaaactt tagcttgaac cgtcatctac accacaattt gagcccccta 42000  
gcacagagca caacgagcaa tagcttgccc ttacgttcat tatttagcat gcactactac 42060  
taactacca ataatcaata catcggttat taaactgttt gtacagttta ataatgtcat 42120  
tttatcacgt taacatatgt ttcatccaac accacaccgg ttttggcaca gtgtgcaact 42180  
tgcaataaca tttttactac ttctccaccc cataatataa caatctcggt ccatactaga 42240  
ttgctatatt acgggacgga tgaagtlactt ctctcttcc aaaatataag aatatagtac 42300  
tagattagat attatttgga ttacgaatt tgattaggct atctagattt gtatgtgtac 42360  
gtaatgtcta attcggtaat aggttattac ctctttggat ggaggaggta gtttttattt 42420  
cgtactccct ccgtttcata ttataagttg ttttgacttt ttctttagtc aaattttatt 42480  
gagtttgact aaatttatag aaaaaattta gcaacattta agcaccacat tagtttcatt 42540  
aaatgtagca tggaaatat ttttataata tgtttgtttt tttattaaaa tgcactata 42600  
tttttctata aatgtagcca aatttaaaga agtttgattt cgaaaaaaa tcaaaatgac 42660  
atataatatg aaactgagga tgtagcagac tatagcaaat tttaactatg cttttatttt 42720  
agagcatcac caaaagatta gcaataattt atccctaaaa ttcaagtttt gggtttctta 42780



aactgaaaat aggaagtga aaatcttttc cgtccaagag atagcctaaa tcttatctta 42840  
actaatataa atattcataa ttttccittc gtcacattaa attttcgtcc gtaaatccga 42900  
ttgaaatcca attggacaat ccaaaaaata gagaaaaaga acagaaaaaa taataaaaag 42960  
cacacaaatc ttatctcaat cccgcgggaa gctgccgacg ccgccgaatc cgctcgagcg 43020  
ccgccgccgc cgccgccgct cacggggaac gatgtcgtcg ctgtcgcacg cggtatggga 43080  
gggcgccgcc gccgctgctt gggagatagg atatggagag agaaggaaa! gtgagggagg 43140  
gttaggtttt tccccatccg tatcttcagc gacacggagg cgatccaagc tgtccatcag 43200  
atcggacggc tcagaacgcc tccatcgica ggccgcgcgt gcttgatggg ccgagggaag 43260  
gccggagggt cgaacaaacg cagtcagagg aggagttaga ggaggtaaag tagaatattat 43320  
ttgcgggctg agatagtaaa tggactgaaa atggcccata gagaaattgg gaattttatt 43380  
taaataaatg ttgaaaaggt gtttataata tcaaaattag aaattaagct ccgaaaattt 43440  
taaaaaatat tcaaagagca ttattaatca tgattaat! aataaaaaat aaatccaacc 43500  
atatcatatt atttcacggc gcacggtagg aaaatgcgca gctgttgtcg ctgacggtgg 43560  
gagagaaggg acattgttta tttccagaac tatcttttat aactcccatg gaactttaaa 43620  
ataaatataa tcattattat agcattagtt tttttctgtc ttttttttcc ccaagagcgc 43680  
cgcgcagaag agatcgatcg cgatctccct gccccgacgt cgccggccga tctctcatic 43740  
tctccacgcc ctgtcgtctg ccgatctctt acaccaatccc tgccatctcc tcttccctt 43800  
ccccctatc ctccactggt gccgcccacc tctccgtata agacaaactg cgttgcggcg 43860  
ttggtttccg ccggcgctgc tgcctgcact gtcagctagg gcgggcatgg cgcgccgcgc 43920  
cgcttcccgc gctgttggcg ccttctgctc ggacggctcg atccaagggc gaggaggccg 43980  
cgccggggggc agtggcgccg aggacgcacg ccatgtgttc gacgaattgc tccgccgtgg 44040  
cagggcgccc tcgatctacg gcttgaaccg cgccctcgcc gacgtcgcgc gtgacagccc 44100  
cgccggccgcc gtgtcccgct acaaccgcat ggcccagacc ggccgccgacg aggttaactcc 44160  
cgacttgtgc acctacggca ttctcatcgg ttgctgtctg cgccggggcc gcttggacct 44220  
cggtttcgcg gccitgggca atgicattaa gaagggaatt agagtggacg ccatcgccctt 44280  
cactcctctg ctcaagggcc tctgtgccga caagaggacg agcgacgcaa tggacatagt 44340  
gctccgcaga atgaccgagc tcggctgcat accaaaatgt tcttccatca atattcttct 44400  
caaggggctg tgtgatgaga acagaagcca agaagctctc gagctgtctg acatgatggc 44460  
tgalgatcga ggaggaggta gccaccctga tgtgggtgtc tataccactg tcatcaatgg 44520

cttcttcaaa gagggggatt cagacaaagc ttacagtaca taccatgaaa tgcitggaccg 44580  
ggggatttta cctgatgttg tgacctacaa ctctattatt gctgcgttat gcaaggctca 44640  
agctatggac aaagccatgg aggtacttaa caccatgggt aagaatggig tcatgccitga 44700  
ttgcatgaca tataatagta ttctgcatgg atattgctct tcagggcagc cgaaagaggc 44760  
tatitggattt ctcaaaaaga tgcgcagiga tgggtgicgaa ccagatgttg ttactttatag 44820  
cttgciccatg gattatcttt gcaagaacgg aagatgcatg gaagctagaa agattttcga 44880  
ttctatgacc aagagggggcc taaagccitga aattactacc tatggtiacc ttgcttcaggg 44940  
glatgctacc aaaggagccc ttgttgagat gcatggctct ttggatttga tggtagcaaa 45000  
cgglatccac cctgatcatt atgttttcag cattctaata tgtgcatacg cttaaacaagg 45060  
gaaagtagat caggcaatgc ttgtgttcag caaatgagg cagcaaggat tgaatccgaa 45120  
tgcagtgcag tatggagcag ttataggcat actitgcaag tcaggcagag tagaagatgc 45180  
tatgctttat ttigagcaga tgatcgatga aggactaagc cctggcaaca ttgtttataa 45240  
ctccctaatt catggtttgt gcaccigtta caaatgggag agggctgaag agttaattct 45300  
tgaaatgttg gatcgaggca tctgtctgaa cactatcttc tttaattcaa taattgacag 45360  
tcattgcaaa gaaggagggg ttatagaatc tgaaaaactc tttagagciga tggtagctat 45420  
tggigtgaag cccaatgtca ttacctacaa tactcttate aatggatatt gcttggcagg 45480  
taagatggat gaagcaatga agttactttc tggcatggct tcagttgggt tgaaacctaa 45540  
tactgttact tatagcactt tgattaatgg ctactgcaaa attagtagga tggagacgc 45600  
gttagttctt tttaaggaga tggagagcag tgggtgttagt cctgatatta ttacgtataa 45660  
cataattctg caaggtttat ttcaaaccag aagaactgct gctgcaaaag aactctatgt 45720  
taggattacc gaaagtggaa cgcagattga acttagcaca tacaacataa tccitcatgg 45780  
actttgcaaa aacaaactca ctgatgatgc acttcagatg tttcagaacc tatgtttgat 45840  
ggatttgaag cttagaggct ggactttcaa cattatgatt gatgcattgc ttaaagttgg 45900  
cagaaatgat gaagccaagg atttgtttgt tgccttctcg tctaacggtt tagtgccgaa 45960  
ttattggacg tacaggttga tggctgaaaa tattatagga caggggttgc tagaagaatt 46020  
ggatcaactc tttctttcaa tggaggacaa tggcigtact gttgactctg gcatgctaaa 46080  
tttcatgtt agggaactgt tgcagagagg tgagataacc agggctggca cttaccttc 46140  
catgatgat gagaagcact tttccctcga agcatccact gcttccttgt ttatagatct 46200  
tttgtctggg ggaaaataac aagaatatta taggtttctc cctgaaaaat acaagtcctt 46260

tatagaatct ttgagctgct gaagcatttt gcagctttga aattcttgtt tggaattctt 46320  
ttctccctaca gtccctattag aggagggatc ttctctgtat gtgtaaatag cgaggtaagt 46380  
atgccaccctc tccgaattat ttttactgtg gticcttagac tgtaaacaag caattatgtt 46440  
atgctgttga tgcagaaaa aacataaaag ttgtctgtta tctctactaa cggatcataa 46500  
agggatttgt gactggagtt tcaaacctaa tgtgtctagg cagtaatttt gacattagat 46560  
ccaaaacaat ttatagggtt tcattaaatt tcatctatgt gtactgttta gggtgtgaat 46620  
agtttgactt gttttttaac tgaacaaaag ataigtctga agctttgttc ttaccaaaat 46680  
gcagtactga tcatcacaat atatttttta tggacaaga ttggatigta tagaatggtt 46740  
tctgatctga ttatcttalc tcaacgtatt attatgcaca tgtactaatc atgaaatata 46800  
tgatggaaatg atgtttctat ttaccigtgt gaggcagcaa ggagttagat ggataacacc 46860  
acatactccc tctgtcccag aatataagaa gttttagagt tggacacgat tattaagaaa 46920  
gtaggtagaa gtgagtagtg gagggttgtg attgcatgag tagtggaggt aggtgggaaa 46980  
agtgaatggt ggagggttgt gattggttgg gaagagaatg ttggttagaga agttgttata 47040  
ttttggggag tacattatta ttctagaaca atactgttgt gctcaagaag cgttccaaag 47100  
atgtttcaca acctgtgctc gatgggtttt gagcttaate ctgggacatt cagtatcatg 47160  
atctgtctca ttcttaaaca tggataaag gatgacagca tgatttcttt gtctctataa 47220  
tcttttggct acccacagat aatagctgta aatctatact actttaaaag gagtagtggt 47280  
ggtaggtgagt ggtgaatctg ccaccacccc accaccaact ctcaaaattc tgacatgttg 47340  
gatcactgtc aatcccttct ccaagacatg tgggatcact gtcaatccct tctccaaacc 47400  
aatigtatga tagaacagtg gaaatcacgg acagaccatg gagctctcaa ccataatcat 47460  
ccttgcgagt taataacaaa tggagcgtaa acttggcaag caaaaaactc aaattaattc 47520  
taaaattaag ctctaggatt caaaatagat ttctctctg cattgtgctg ttatgatttt 47580  
taattccgta acaacgcaa tgcattttgc tagtcttata aagaagggtt aatgcaaata 47640  
ttctgattaa atgattgtat ctatgaagtt tgaatgctag tggagctcc ttgaccatg 47700  
ttttgttgtg cgagcattta agagagtga gagaatgctt ctttgggtgt gtcttggtat 47760  
ggaaggatcc acagataaaa tticaggttct actgtctctc tgcctgtaat ttcatgaag 47820  
ctgcagtga taccttgttg accactgat ctgtgtcttt gaaggagaat atagtagtgg 47880  
ccaaggttgg tgacggtagt ggtggcatgt gatccccag atcttcagt acccagagag 47940  
gaggggacgg cgcgtggtag gctacaaggc atactcagt gagggcaaga tcaaggcctc 48000

ccgtccgtag gggactccgc tgcatacaagg ccaactgcctc cgaactgatac aatttctgggt 48060  
acggatacact tctcctttcc tttttttttt caccittaagc actctcttga ttcttcgctg 48120  
ctaccicccct taatttcttt caatatattg tggcacttga tcatggcgga gaccacacctt 48180  
ccagtgtagaa tggattttgt caaagaacta aatttattcc attagcitat ttcccgatta 48240  
catggaagac attcttttct ggaataaata cagaactaaa tctgttttcc tgaataaaag 48300  
ttgttagtgt gtggcatgggt gcatttccgc gcttctaaat ttataaaaac ctgttcattc 48360  
aatttgaacc tgcatacaat ccaatatitt aggtgcagac aggtgcttgc ggtcaggita 48420  
aagaagttgg caaaaatgct tctgaagaaa ggttaattgt tgtttcaict caggaggtaa 48480  
tatgcagatg attattccaa ttggcatgtc ctggccattt ttatcacgag tctttacaat 48540  
tttataacct cctacataat ctttccagat tccagatgat ccagtgctc caacaattga 48600  
ggcgcttatt ttgtccata gtaaagtaag tacacttgct gagaaccacc agttgacaac 48660  
acggcttggt gtaccatcaa acaagttgg ttgtattctt ggggaagggtg gaaaggtaat 48720  
tactgaaatg agaagacgga ctggggctga aatccgagtc tactcaaaag cagataaacc 48780  
taagtacctg tcttttgatg aggagcttgt gcaggtaatt tatttggcca tacttacacc 48840  
agagatccat atattacttt tataactgca gtttttactt gttaacattt cattgtgctt 48900  
ttacatttgt tccaagcttt caggttgctg ggcttccagc tattgaaaga ggagccctga 48960  
cagagattgc ttcgaggctt tgaactagga cactcagaga tggaaagtct tccaataatc 49020  
cgacaccttt tgcctctgtt gatggctctc ctgttgatat ctggcctaac aagggaattca 49080  
tgctataatg acgacttgct aatagtcctc catatggagg gcctgcta at gatccacat 49140  
atggaagacc tgccattgat ccaccataat gaagaccaat atccacaata tgggaagacct 49200  
gccaatgata caccatatag aagacctgtc aatgatacat catattgagg gttgaacaat 49260  
gatgggcctc gtgatacagg ccggttctga ggggggtcga atggggcgat cgctccgggc 49320  
cccccgattc ccaggggccc cactatctg tgcacagagt agtagcgatc ttccagcgcg 49380  
caacgtgagg cgatgtttct ccgtgatttc gccggcctgc aactgcgaga tgcgagtat 49440  
aacgatacgc cgatcgaict catctgccga ctgccatgtt gatgccacac gcaagcgag 49500  
catatcagcc ttatcttgggt tgatcggcat gctggacgag cacatctgtt gtcgcatcaa 49560  
ctgctgactg ctatataatg gctgggtcgt aatcgatcga ttgtcgtcac ggaagtgaag 49620  
aacaaccacg gcaatgctgc ctgctgggtc ctgacccgca tcagtaagta cgctatactg 49680  
cctatctaga tctagatcga gattacatag tggaaattat tgtttataac aaaattacaa 49740

ggatcaatt gataatttaa ggtataacc gtacaaactt cagtgatitg ctggtttcac 49800  
atgggttaga ttgttttcaa ctaatttggg acttctgtag ccttgtaatt tacgaatcta 49860  
gtattaatat tttcttaagt attagccigt tcttgatat tatgctgttg agaaagtatg 49920  
caatagataa caaaaacaag taggtgtgtt gaggatgctc aagagtaata caggcacttc 49980  
aataattctg atattatcag gacatcatca ataattctgc gcctacaaat cticaaagaa 50040  
aattttaata taatgcgtat gattttttta atacgaatat tgattgctat ttaaagatat 50100  
ttatattata tggtaattat tatttgaagg ttataataa aggccctccgt ttttagtttc 50160  
acgctgggcc ttcagaatct caggaccggc cctgctcatg atccttacac cgtgtatcct 50220  
gtagagtact tctctaaaag agagtaccct agtggaaagta gcaaagtgc accatctgct 50280  
tcatacgaagaa gatatgcagc aactactcgc ttgcctaata gagaactgcc ctcatctatt 50340  
agtccctggig ccgattatat gtccctgccgt tcttatcttg accaagtacc tactgatagg 50400  
tactctaata gggttacact acaattaggc ctcttgagag ccgggaatag taatgtgcaa 50460  
caattaggaa tcaccagagc tggaaattcc aatgcttatg attatactga ggtacatttc 50520  
caatgcgtta gcttgcctct tctttgcaaa tggccctcgc ctgatatgtt tccattagaa 50580  
acatgaaacc atatatattga ctgttgcatt atgtctatit tcttccatga tggttcagac 50640  
gtctgaaaaa aggacaaaaa tattctagaa tatgtcatgg tgatccaaat atatccttct 50700  
gtcttgtgcc cactctaata tctatcgttg gtaacactat tcaattgita ccatgttgtt 50760  
gcaaacccta gattcagtta ttacagctgtt ctctgcctgt gtigtcttacc agttttctta 50820  
gttgggtgtt gatcttttct catTTTTTat ttccctgttt cctggttcac ctgctgcctc 50880  
tctgatgcat ctgaatgtat atttttgttc tcttcagtgc ttaatagatt taaatttcat 50940  
tcttttcagg ctgcggagct gatccatgga cgtgaggatt accgaagact gtcaggctctc 51000  
actgggtatg gcttacgcag actgaatttt tacaggacac aaacatgaat ttgttcccca 51060  
taatcatiga gtgatgatct ctttgcaggt atccagggtg ctctgtcgaa ttgtggattc 51120  
caaatagtta actggagtct gtcatgtgtg ttgggtgggt caatctagct gagatccgtc 51180  
tggtatagcg taagagaaac atcatgcact atccccagtc ataaccatgc cccaatggcc 51240  
accaatagtt ttccctgtga aaatctcccc ttgatccag atctctggig cgagagtga 51300  
gttgcacgaa gcccatcctg gtcttccga gtccattgtg gagatccagg gcattccgga 51360  
tcaagtgaag gccgcacaga gccctctgca aggttctatc ggcgcaagca gcaacagcag 51420  
gcaggcgccc cagtcctctc gcatggccca ttatttttag taagctggag gacattcgca 51480

acaggggggt cagtggtcac tgcaaagctg agtttgttct tcagttcaac tgcagaaaaat 51540  
tgcagatcgg ttgccgtagt tgctagaacg gtacatagtt gccacctaac tgtagcgagt 51600  
ggcataactt atttgttgtt actgcccaat gttgtctctc ctltgtgtica tggattcaga 51660  
ctltgtgattg tagtatttct ggatcagact ggagtaaaag aaaaaaaaaa aggaagacat 51720  
gggtttaaca gtaagctcaa aacgttgaca gtagtaaaat aaaaggggtt tgttcacitt 51780  
atttccaata tcaaccttac caacatttgg cgttgaatca ttatataccac atcgcttgtg 51840  
cagctgaatt tggggctgtt taaaagaatg tctcttggat tgctaattgc ctgcggcaa 51900  
gcgtggtaac ttgtacaata taaatataat tataactatt taatttcata attaaacatg 51960  
ttgttacaaa tctctactat tataaaaaat gaagatgttt ttigccggta ttttggtacg 52020  
tcatctgtgt atgaatccgt ttttaagttc gtttgctttt ggaaatacat atctgtattt 52080  
gattcagttt ataagatcgt tcacttttgg taatacagaa ggaatcataat aagaattctg 52140  
tttaaaaaa ctcgtatagt aacttgagac gatcagacgc ctaactacag ctcatgattt 52200  
tctaaatata tatatatata tatatatata tactagaaaa aatataatgt tgttaaaagc 52260  
tatcttaate ttattattgt tatatatatt agttaacaag aaatctattg tgggaacttg 52320  
tttggtatata tattttttta aaaaaaatca tgagctgcaa ttaggaatcc aatcgcttca 52380  
agtttagcagg agggcgagtt tttttaaaga gatttcttat acgatttctt ctatatttct 52440  
aaaagcaaac gaacttaaaa accgactcaa acatggatct gtatttccaa aaacgaataa 52500  
acttaaaaa cgcactatgc acagatgatt aatttttata atagtagaga taaacgaact 52560  
cccacagta attttatttt aactgaacca tataacaata ataagattaa aatagacttc 52620  
accgttgca atgcacgggc attttttcta gttaaagaag aaataaaaaa acacaaaaat 52680  
ttataaaatg taaaaaagaa aaatattata atttggtag aattattatt ataatataga 52740  
aaaatagttg ccaaaatttc tcaacgaatg tcgaataaac tcagcaatgt catatatita 52800  
aatatgatgg taatatttgt tcgcaaaact ttaatcttca atccttcaac aacatagata 52860  
tacaacgtcg taatcgccaa caagcccgag tgaccataca ggatagccga gcggtggatc 52920  
tgtactgttc ttgggtgaaa taaatctagt acattgtata tcttatctta atatctacta 52980  
ttataaaaa tgaagatatt tcttcaaaga ttccatacgt tctctactc cgttacaata 53040  
tcggttctac tccgttaca tctcggtttt gtacaccccg cgcacgcgtt gtgtgttctc 53100  
ccgttccaat acatgaagct agagctctgc ttctccctgg tctggcaggc cttttttcca 53160  
ccatccccac cagggccagc gggttacatt gaccgatcac ggcccacatt agtggatgca 53220

gccagccacg ctcttcacaa atcatgtgat gaacattagc tgagttaaaa ttatcccttt 53280  
gatgattggt agaaatgttt tttctccac atcttctctt tcaattttgg aaaaatagat 53340  
ttcttgattt ttgtgctcgt acatcactaa taaatcagtt gttacccttc cacacatigt 53400  
caatttacca tgtctatitc agctcttacc ttgtatagtc ttgactcttg agtccctcgt 53460  
attgactaag ttgctacatg cctcctacaa atcaatagac tgccataaca atatitttcta 53520  
cgacatgatc catattagtc catgcaatgc aagtacacac aacttactgc acgaaaaaac 53580  
tatgcacat aacttcaaaa ctaacatggt agaattgacgt taatttttca ttacaattat 53640  
attcatcgac cgtaatttta ctaggcatcc tgttttaaaa aaatatctac cgaccatacc 53700  
cacatgttcc gtagttcatt aggtgatgga tggtagtta cagcagctgg atttttatat 53760  
tttgggtcatt ttgaaaaatt tatttcgcaa atagactcct gaaaaaactt atcccagaaa 53820  
tagtcccttt tggagcgica gattggctgg cgccgtggtc caacgggaca gcgccaacct 53880  
ctctggcgcc gcccccgcc tctattcttg tttctctata tagagtgcga aactttttat 53940  
ttttgtttta tttttttgga tgttttttca ctcttagaat cagatataca ccaactacaa 54000  
aaaaaattaa actcgaacgg aatatatcac tttagctagaa gtctgaaaa atagcatacc 54060  
acttatctac ttgacacctt caccaaaatt agaccataac ttcttttagta aaatcccttg 54120  
atcagcata taaacataat gcactctatc actaggigaa attacttaat ctaattcaaa 54180  
atataactac atgtagcctt gaaaaattct acatgccaca tatttcgtcc gtttgagttt 54240  
attatitttta tggttcgttc atgtgagttc ccaagtigta aaaaaaaata aaataaaaaat 54300  
aaaaaagttg cacatccctt cctctgcatt agagaggaga ggagaggaaa aattctacag 54360  
gtcacataat tcttccattt gatttcattt tttctatggt tggttcttgt gtgttcccaa 54420  
gcgtgaaaaa aatatcaaaa aaataataat aaataaaaaa attcgggggg ggggggcgcc 54480  
agccactctt aggggtgaaa acgatcggt aatatccgat ccaatctgct ccgaatccat 54540  
ccgaaataag gatattggtat gggtttttag aaatctggcg gatattggtg cggatgagga 54600  
tatggatatc ccgaaatagc acggattatc cgacattttt gtcggattat ccgataggcc 54660  
ctttaccgga taatccgaaa ttatgaacac atgtaaccac tctatctatt gcatataaca 54720  
taagttaggt calccaatga cctaattcat caattaccct agatttctta ctatgigggt 54780  
ttcaccattt catgtcacac ttgcgtagct gtatitttat aaaatggaca tcatgtattt 54840  
atgttgttta gcactaagc acataattat tacaatgggt cgtttatiga cattgigtta 54900  
tttttacttg cattgctaac tcaatgttgt attgattgca tacacacgta acatctgata 54960

aaatttaatc cgtttctgaa ccgattccgc accatttccg acatctgcat ccgtacacta 55020  
tccacaccca ctccgaatcc gcttaaaaaat atgggttagg atatgggatg accactatcc 55080  
gtccgaatcc gctttatitt cacccttagc cactctggcg cgcttcccct gccaccicag 55140  
catcgiccca ccacgtcggc agaaggacgg cggctccagc cactctggcg ccacaaaaaa 55200  
ggaccatttc tagcataagt ttttttaggg gtctatttac gaaataagtt tttaaaagga 55260  
ccaaaatgtg aaaaatccag gttacagcag actgtgataa gcaatagcta tattgcctat 55320  
atatacacgt atatgcatg ctaatccttc aattttgtcc aattcttita aattgtcttc 55380  
acctgttgca acgcatgatt tttttctag tcttaacctt aactaatctt aataactaac 55440  
taaaagattc gtatctttcc gatcgtcacc ttgtccatac gctaattttt cgteccgtccc 55500  
ccctcccccct caaaaaaaaaa gggaaaaatc cattttacac cctcgaactc ttatgcttgt 55560  
ctaaaataca ccccgaact ataaaaccgg gtataataca cctcagagct atcaataccg 55620  
gacagttcaa ggggtgtatta taccigtgtt tgtagtgttg ggggtgtatt tagataagca 55680  
taagagtica agggcgtaaa tggacttttc cccaaaaaaa atcccagtcg ttactttcca 55740  
tcttgagaat cggagacagg gaaaactgaa gcatacacgc aaatagaatc aaagataggg 55800  
aaaactaagc atatacacac aaatataatc aaaaatccc atgcagctag atcgggtgcc 55860  
accgttgttg ccaaaccacc acattgcaat gtaaatctaa gactaaagcc taaatcctat 55920  
gctaagtcac caaatagac tcggttctac caatttggtt atatatcaaa ttagacttga 55980  
tttttactga tttagaggtc tcgagggtgc acactatgaa acggaagttt tcccgttgc 56040  
aacgcacggg cactatgcaa tatcttaact aattaaaaga ttcatatttt tctttcgtc 56100  
acaccgatct ttctcctgc tgtaacatca cgtgcacctc ctctccaaat cccacatcat 56160  
cataatccga cccaaaaaca aaatctcaat ctcaatccaa tcagaatcat cacaaaaatc 56220  
tccaaaatat caagagatga ttataggaga tggaggggtg agcaggagca acatcatcat 56280  
cgcataaaaa ccccaaaatc aatcacaaca acgacatcat tatcacataa gaaaaacaat 56340  
acaaacaaca tacacaatca acaacactgg cggatccagc cgaggggaca acggcgtggc 56400  
agcgggcaga tctctcgggt cagatccgcc cacgggtgcc actgacgtcg ccgccgccac 56460  
cggatccaag ggagaagctt cggacagagg gagagggggg tagaggaccg ctaaatccgc 56520  
ccaccgaaa tgcgccgcc accacctccg tcggatttgc ccgagggagc gccgatgccg 56580  
ccaccgccat cgcgggagaa gcttgggcac ggagggtgag gaggaggggg ggtagagaat 56640  
cgccggatcc atccgcigga aaagccctcc cggatccgc ctgccgaaa caccggtgtc 56700



gccgcctccg ccggaattcg tagcgggagc cgccgatgcc accaccgccg ccggaatccg 56760  
tcggitgggag ccactgacac catcgccgcc gcctcctctg ctaccgacaa gggagagacg 56820  
agaggggacg gggcgagggc gggggacgag agggtagag ggagggaccg agtgggagag 56880  
agagggacga gtgagaggag ggggacgagt gaataaggat gcgtgacctt atccactcgc 56940  
gcggtcgcac cccggctctt tctctcgctc agctgttgcg cttgtggaga ggatgcgaga 57000  
tttttttttg agtaaaatgc acgggcgggc cttaaacttg tagcggctctg tcatctaggt 57060  
tcccaaactc tcaaaatgca tatccaggtc ctagaatttg tcaaagtgta tcatctagat 57120  
cccaaaccga cacatcctct cttggatcct acatggcgct aatgtgacct gtcacatgga 57180  
cgtgacacgi cttttttttt cttcttttct tttcttttct cgttttcttc tcatcttctt 57240  
ttttttccat cttctgctcg ggtcacatag aaaggaaaag aaaggaaaat acaagagaag 57300  
aaaaaaagaa aaaagaaaat ttttaaatgg gtcctatcgc tcagtcacaa ttatgccaca 57360  
tcatgtccct gcgacatgcc acatcagcac cacgtagcat cctgaagggg ttgtggcgat 57420  
ttgggacctt aatgacacac tatgacaagt tctaggacct ggatatgtat ttgagagatt 57480  
taaggattta tatgacacac tactataagt ttaaggaccg cccatgccct ttactttttt 57540  
tttttacacg gagagaatgc gaatttgttg gttagttgcg gctgagggtt tctcgcacgg 57600  
agaaatttgc ggtggggagaa ttttttttcg aggttcttct tatlgggaga agacgggatt 57660  
atagggatia ttactggtgt ggtggccctt gtttcttct ttttctgagc ttctttccgt 57720  
taaatttact tttctctctt caaggagcgt aggacatgac tgaatgcagc tgcgtgaaat 57780  
tagaaataaa aaagaaacat attctgtttt tcattttttt caataggtta atataaagat 57840  
ttttaagtaa tatttaaaaa tatatagtgc tgatcaacga catlgttaag tgagattttg 57900  
ctgttactat cacttttttt tccattgggc tcacgtacgg cattaaaagt tttagttttg 57960  
gttctctcct tttagatttg ggcatatacc aatattgaga taggtatact aaagttcatt 58020  
tggattttat tcgattcaac ttttttgggt ttgtttcagt tcttttttac atgtttctca 58080  
tctgaaatta ggaaattagg ttgggtaaag tcttgaatag ataacgctgt tgacgtttga 58140  
acatatattt atctatttat ttatttaaaa atatatgaat aatttttatt ttgttatgac 58200  
ttttgtcggg gacatgggac cgggagtaic atgactagag gcttgggcag gagcgatcac 58260  
ccacgtggcc tgatgtaaca tccatgaaaat tcccaacaat aaaaatcact aaaattttga 58320  
actttttaaa acttttgcac catgtcgtgt gttatgattg ctattgcttg ccaaaccgta 58380  
aatgatcaca aagaaagtaa agtaaggatc taaaatttaa gtaatagata aattttacgag 58440

aatataatat ttaattgcta accctacaaa taattacgca caagaaaaca aagccagaca 58500  
aacggaaggt taattactaa tttaaattat ggattaatta tttaaatactt gaaccatgtg 58560  
ttgcgtgccca tggcatctaa atacacatga aataatggc atataattaa attaagcttt 58620  
ataaaaattat gtgaggtttt aattaagcaa ttagcttaat gtigtaccga gctttaatat 58680  
actatittata gaataaataa attcaacctt tccgtgtaaa atatatgtct ataagttcat 58740  
tcaatgtact attgtaataa taatggccac attaggatat tttaattaat ttiggaacct 58800  
tcaaagcctc caaaattatc taggttaatt ttgaaattat acctcattta agtaatgcaa 58860  
tagaaaaata tacataaaaa taaaatatgg gtaataatag aaattgagta aattttcatc 58920  
taaattaaaa catatatgtg gtaaaccctc ttatgtaaa aattaagatt tatagaatga 58980  
aatttgtaca agggataaac taaaatcggg ttaaatagaa aatggcactg ttcatgtcac 59040  
tctagggtgt cgacgtggc cctggcccta ttttccccct cagccgcgcg cgccgtggctg 59100  
ccctgcgccc cgcgccacgc caccgcgcgc gcgtgcgcgc tgcgcgcgcg tcgccgtcgg 59160  
ccgttccgcg ccgctcgtcc gtcgctccgc cgccctgcgc cccgcgcgcg gtcgtcatcg 59220  
cgctgcgcgc gccatcaccg cgccgtggccg cccctgacct cgcgccgcgc cgcgccgtcc 59280  
cgtagccgcg tgcgcgttcc atcgccgcgt ccgcgcgcgc cgccgtcacc gcgcgcgcgt 59340  
cgctccgcgc gcatagcccc gcgcgcgcgc gccatcgtgt cgccgcgcgc tgcgtcgt 59400  
ctcgagcccc gcatccctct cgagccccgc acgtcgcgtc ttgtcgcgt tgcgtccgcg 59460  
tcgtcgtcgc cgaatcgtgc gcgtcgcgc tgcgcgccgt cgcgctgcct tgcgccccgt 59520  
gccgcgcgt ccgcgttgtc gctgtcacct tcgcgtcccg cctcgtgccg cgcgccaccg 59580  
ctgcgccccc gtcacgtccc gctcgtcgc cgcgccgcgc ccgtgccgc gccgtcaccg 59640  
tcgtgtcgc gtcggcctcg cgccctgagc cgccgcgcgc ccgtccctc gcgcctgcgc 59700  
cccgcgcac ggccgtcccc tcgccgtcgc cctgcgccac tgcgcgcgcg cccgtcccat 59760  
cgcgccgagc cccgtgccgc cgcgcgcgtc gcgtcgcgcc gccgtgcacg ccgctcgcgc 59820  
ccctcgagcca cagcgctgc gccgtcgcgt cgccattagg gccggccacc cctttccccg 59880  
cgccctataa aaccccccg ccacccccct ttacccccac accatcccca ccatccccc 59940  
tcttccctc ctccttcccc tcttcgtccc ctccaccgcg ccgcgcgcgc gccctcgtgc 60000  
cgccgcgcgc tgcgcgcgtc tcgcgcgcgc ctgcgcgcgc cgcaccgcgc ccttcgtgc 60060  
gccgcgcgt gcgcgcacgt cgtgccgcgc tcgcccgtgc cgtcgtcgtc ccgcgcgcgc 60120  
cgctgcgcgc gtcggtaagc cgccgtccct tccctcgttc cgacgcgcgc gccgcccggg 60180

tgggaaggag ccgagagaga gagggaggaa ggagccggga gtaggaagaa agaaaagaaa 60240  
agagagagag agaaaagaaa agagaagaaa agagaaaaga gagaaaagaa aagaaaagag 60300  
attagagaag ggagggaaga gtgggccccca cctgtcatta gcccacatcca attcccccta 60360  
gaaaaataat tctgtagaaa agaaaatcaa gatcttgacc ccacctgtca gtcaciatag 60420  
cgtgtggata aggttgtatt aaaaataaat gaattaggaa cagtactatt tgcgaactat 60480  
tagaattaat tcaaatttga atcittacac tagcataact aattcatttt agctccgatt 60540  
tgagtggaaac ttgaacctaa attcatctaa attcataagc ttccaatgg tatataattt 60600  
actattaaat aaaatataatt tataattatt aagtaattaa tatcataatga ttaggttatg 60660  
gtcaacttaa aaataatgcta ataaataaaa ttagtatgtt ggatgttaata atatttgtct 60720  
ctaacaatgtc ttgccactgt aacaaccaca caaactaata ttaagtatg tctgaaatga 60780  
atgaatgaat aggaaaatac tagtacttgt ttaatatctg atagccatat aattaaacc 60840  
atggcittata ggttatttta atcaaatgta gccttgtgat tatgcaacta aaatataaac 60900  
acatatagat gaatcttttag ctgtattagg aggaataata acagagctag tgtgactagt 60960  
tatgatatag ctgttgtctg gttgcctata tttagtaaatt ggttcaatgt taatacactg 61020  
atgcacacac ataccctttt tgataacctt ctagtgtcat atattaaact tggtaataaa 61080  
tgaagaacca atatattagc taaatactgg tgctagttaa aaatcttgac cacacataat 61140  
tttagttcaa accacacctg aggattgttc gttataaagt tataaagtta taaagttata 61200  
caaaagataa tatgtiaacta taatagtatt aaaccacaaa tctaaaatac agggcgcata 61260  
attgtcaacc ttttatgcaa acggataata tccatatata tacatcatgt ggataattcg 61320  
aataatagct ccattggtaa aataataatg taggcgaatc atggigtatga gatggtttat 61380  
cctaaacctc cccatcgaca tagccatgtc atagggacct gaccatttta ccttcataac 61440  
agatctcttc cataagccaa tagctagact aaaccacaga ttagcaaatg tgtacatcat 61500  
atatttgtct agttagtacc aatagaacca tcaggacaat ataaatacta aggaatctta 61560  
gctcttagct tgattagaat ccaatagcaa acacgagtag tatgagcagc cttaggttcg 61620  
acctcaataa ttatatittg ctgtgtcata attgcttctt gttgaatatt ggtttttctc 61680  
gcataattata gaaattgtat atcggttagt cgtgaggcaa cgtatgcagc tticaggagg 61740  
tgaaggttga tcaagattgt atcaagaata atgactattc taagcaggca agtcatcact 61800  
attccttgaa catgttgatc ctaattgcga aattattttg ttacaaaata aaattgcatg 61860  
caatgatgaa catcctactt gtgattatgc catgccttga ttattgttta cctttaaatt 61920

ccttgtaacc atgattacgt atgagtcctt agtcaattat gacaattgct tagagatgct 61980  
attctagaat catgcatact catattttatc aaatgctata tgcttgggca attacctttg 62040  
ggaaggtaat tgagatgcgg catgtggaga catgaacgcc acatlgccat gatattaatg 62100  
acatgatttg tgaaggaga aataaaatta aacaactgtt ttcgactggg gcggacggag 62160  
gatttgggig gtatctggaa aaggctagta ccgtccccgg tcaatttaagg accgagccat 62220  
gaagttaagc atgaaacgac ccccgtaaca ccgcacttct cgtatgggia tagacctagc 62280  
ggagtagata gctgagcgga ggcagtatcc atgcatagtg gtttcttgat gtgtgaggca 62340  
ggggctctac gggtggggcag ccattggtag gaccgcaagg cgggtatcta cagtgggtgc 62400  
gccatcggtg ggactgccat gtgagaatct aaaacataat tataacttaa tgcattgttg 62460  
agtccttccct tcccgggtgc gccagaactc ctctcactgc tagaaaccgt gtacgcctag 62520  
agtgcattgag gatgaaaagt tcatggagcg ggtactgcca atgcgagggt atcgaaaagc 62580  
tctgccgtga cgcattctcat gtgttgggac gaggtcatg tgttgggcag tcgcggagtg 62640  
cgggttaaagt gtacatccac tgcagtgta gtaaaccaaa tctattcgaa tagccgtgct 62700  
cgcggttatt gagcaccggg acatgtatta cacttggcta gactctaaat tcttaacttg 62760  
tggggaatgg gatattgcat gatgaatttt atgctgatgg agccacatcc cgagaggagg 62820  
gaaggltggac atcttcagaa aaccatgacg attcaatggc gggaagctat ccttgggcatc 62880  
acaatggatg gtggacagaa ccgtcgttgt ttaaagtga cacttggtagt aaaatttgat 62940  
cgatctatgc taggttttag gcttgtgaaa agaattglaa aattagcttt atgcaaaagg 63000  
acctgaagcc attccttgaa ataccctcta tcatatgcat tgttattatg gtggcttgct 63060  
gagtacgggt ggtactcacc ctgtctattt atatatcttt taggagagtg ttgaagagaa 63120  
gcccctgtcg gtacgcttgc gtatcccaca agatgatcgg agtgcggctt tgttctaggt 63180  
ctcgcttccc cagtcgactg cctgtggcat gtttaaccggg cctttatatt atttgtctt 63240  
tcgctgttgt tctctgatag ttgttggcct acctggccct aatgtaaglia ttttaactctt 63300  
ttagccataa ttcatctgtg atatgttgtg atccaactat gtatgttgtt accaactact 63360  
gatccaggga ttggtacgga taaacacaga agatttccga ttcccaaaat cgggggctta 63420  
cactgaccc cctcaggggg ggggggtcgg gcccgagggt gatgtggccg cccccctctt 63480  
tgtctccccg aggggtcggg ccgctcccg tcttgccccg agggctgagg cggcccgacc 63540  
ccttgtgggt ttgcgccgc gtgtatgggt taggtgagca caacggggct cacctaaccg 63600  
tatttattgt ggtttggacg agcgcgtcac gccgcatgta gcgcagtgca gcgcgctcgt 63660

ttatccggtc tgtgaccagt cacagaccgg tcagatcgtg ggtaggtgg caacaggcgg 63720  
tctgacacac gcctcgcccc atcccgtcag gataagagcc tccaggcact tgtccctagc 63780  
ccggagccag catgctaact cctggagatg acacgttggc cccggtcaga tataigccag 63840  
gcttcatccc aaccattaca agcaagatai tgtatgaaga agggcgaaca tgcagattgc 63900  
tggactgaca cgtgggtggac aagaatgacc gatttgtgac cggctcgaaca ctggctatgt 63960  
cgicggcaga caaccatgtt cccacgttgc acctgcttcc ggccggagtgg aggtaggtat 64020  
gggccatccc atcagaaggt cgttcggaca gcagccattg caagtcctccg cccatttatg 64080  
aagagatgac aggggatgcc cctggagaga aaaaaaggag gaccttgccc acctaggagg 64140  
tgaggacgac tggaagggga gaggatctgg agagtagatc ccacgagagg aaaaaaggga 64200  
gaagagggtt tctagagtaa gagctctctg actctccagc tctttgtagc ttcttcgtac 64260  
acagatccac cagaaaatag gagtagggtt ttacgcttct cagcggcccg aacctgtata 64320  
catcgcccggt gctttgtgct tttttcattc tcgcgaactt tccacagact aggagcttag 64380  
aatctcgccc agggcccccg gccgaaccgg caaagggggg cctgcgcggt ctcccgggtga 64440  
ggagccccac gctccgtcaa ctttggctta taattaaaaa tacictaagg atattttttt 64500  
atattttatt ttcttatgtc tataatgaaat tttaaataag atagatggtt aaacatatat 64560  
tggaaaaaaca tataatccaaa agtccactat cacaagcgta gcatagatc gattacaata 64620  
cgtttccgcg aagactgttt atacctactc tattccctgt tccttgtgcg gttgtgccat 64680  
ttggggctgt tttttcatct cggattaaact cgcgtggaaa ccgcgagacg aatgttttga 64740  
gcctaattaa tccgtcatta gcataatagg gttattatag cacttatggc taatcatggc 64800  
ctaattagac ttaaaagatt cgtctcatga ttacatgca aactatgcaa ttagtitttc 64860  
tttttatcta tatttaatgc ttcatatatg tgcctaaaga ttgatgcga tgttctggga 64920  
aaatcttttt ttaactaaac atgcccaggg tgtttctcca attaagtga cccaaaatca 64980  
ttcggcgica ctttgtctt tcaatttctt tccactacaa ggtgatgaca ctgacaaaag 65040  
gtccaaaagc tacaggatct gatttttgtt catccatctg tgatgtgtcg gcaagccatc 65100  
catggagttc atccactcaa ctctctctc tcagagagag agagagagag agagacagac 65160  
agacacatgc atgatagatt gtgctagtac ggtagtaaca ttttatigcc tctttttcta 65220  
aaattctagg ttgtttggaa aacaaaaatt ctagattgtt caataaatta ataattatag 65280  
gtatttatat taagtcactt taggtgttaa ttttgaatt ttaaactgtt taaactctct 65340  
ttcgacgcat ctgagagcag gtacaatagc agactataag ccagctataa atatatatta 65400

agtagataaa agaggaaaaa taagagtagc gggctataga tttgtagaca gctgcagcgc 65460  
gagctccaag atacataatgt gtagacatg tgagacaaa cattaatat gtagtatatg 65520  
tttataatgta tctattgtat gaattggcga ttaaatgac tatgggtgtg ttcggagggtg 65580  
gggtgtggga accatctccc aagcacggaa aacggagcgg tccattatgg cgtgattaat 65640  
taagtattag ctatTTTTTA aaaaaataaa tcaatatgat TTTTTTaaac aacttttgta 65700  
tagaaacttt ttgcaaaaac tcaccgttta gtagittgaa aagcgtgcgc gcggaatatg 65760  
agggagaggg gttgggaacc tctcatccg aacgcagcct atacatgatt tggagccaat 65820  
agttagctat aatatTaaac ttgctctgag tggctcttga atcatcgaag tgatagaaat 65880  
catatgcaga aatgtttata tttgtgatgt aaaatttgaa tctaaaatta tttatatTTT 65940  
gaaatggagg aagtactacc taaaacaagt atgagaaaga gacatgaaaa acacaaaatc 66000  
tagacttaaa aataattgga attactagca ggaggtcgaa gtcaatcaag acggcgaaga 66060  
aaagcacagg ggacagcaga caggttaaca cgtaagTaaa caaacaagtg gttaattaat 66120  
tagggggccc tcaagtctcc cctaaagcca ctaaacatga caggtttgtg taccatggaa 66180  
aaaagggtga agcaaaactt tattctctct ctcattagat taccagttgg aaagcaatcc 66240  
tgggacctct agctaactct attattgtag aacaacgttt tcttagagag agagagagag 66300  
agaaataagt caataaaaaa tactactaat ccacttgaac cagtctgtc ggtgtcggat 66360  
gatttaccac atttgacgaa acggactatt tattcgacgt ttcgaaaaac acactTTTTT 66420  
agaaaaaaaa aactttccctc tattagccac tegttttagt tatataccta tccgagtatc 66480  
tgttaagttt atttatcaaa atatttaatt tatctctata attaaatata caatccgtaa 66540  
aaacaatcac gcaglaattc gtttcaaact gagcctcagc tagaaaatca aaatggaaat 66600  
gaataacaat agcaacagta gagttagttt ttcggcttat catccgcaac ccaaatgcga 66660  
attttaaact tagccttaga gttaattttt aaggcttgtt taccatactt cattttccca 66720  
gcattagttt cttttgtcac taaaaattgt ttttttaagt tgtttcgttc attttctcac 66780  
ggtttatcag cagtagagcg aagccattct tggagcctgt ttggcacagc tctagctcca 66840  
gctctagctc cactctttct ggagctggag ctgagcccaa cagttttagg tgcacaaaaa 66900  
ttaggagtgt agttgggtgg aactctctca caaaaaattg tggagctgga tttagacagc 66960  
tccacaactt cactccaaac ccaactcctg aagttaaatt gataagttga agctctatct 67020  
atcaagccct tttctttgat catgcttcta cctactccat tttgtttct tggccctcac 67080  
aggaattgga aaggaaaggc gtatatgcat caatgcatgc atgcgcacat caacctcgtc 67140

catcaacat cataatcat atcatctgc cagctgacga aaatgacctg catccatcca 67200  
tcacggacaa tccaagcgaa caccgctacc aacatcacag ccaacctgtt tactactagc 67260  
tcttgatacc actcctacat aaacactacg cgcagggtta ttaattaagc gtgattactg 67320  
aagtaacatc taatcacgtc ctgggttagcc ttttaataaga caacagttag agcagggtaca 67380  
atagcagcag gatataagcc agctataaaa aaagagagaa aagagcaacg ggctacagat 67440  
ctatagccag ctgtagcatg gacticaaga cacaacgtgt gtataacagg tgggaccaga 67500  
taataatagt gtagtatagt aagtaactat tataatatatt gactatagat gatttggagc 67560  
tattagtgtg ctataglatt aaacttgctc atagagcagg tacaatagta ggatattagc 67620  
cagctataaa catattataa tgagataaac attgatagag aagagcagcg ggctacagat 67680  
ctgtagccag ctacaacacg gactccaaga cacaacgagt gtatgacaga tgggaccaga 67740  
tattagtagt atagtaagca actattatat aaattaaact ttacattggc tatagatgat 67800  
ttggagttag tagtgggcta tactattaaa ctttttctct tagcaaaaat caagcgcccta 67860  
atcacattag aggagtagct ttgagacaaa ccaattagcg gcgaatcaag cgatctgcgt 67920  
ggctgctacag tgatgggccc ggccggggccc acagcccgac agtgacaggg ggccctgacgc 67980  
atgtcagcct cagccctgga cgggagctag ccgttgtgtc cccgggggag gggagggggg 68040  
cattcccatc atttcgcccc tccctcgggc ccacatctca gtgggggtta aggtgtaaat 68100  
tactgcgacc gcgagtcag cgagcctaga ttgggacctt gtgtccgttt gactgaaccg 68160  
gagctactcc ccaatacggg gggattgcgt tgtgtgcatg ccatgtgggc ccgagcgccc 68220  
tttgttcgtg gctttgggtt ggaaaggta ccgtgtgagc tgtgcggtgt tgtactacgt 68280  
attagttata atcatttttg ggtactactc cctccgtcca aagcttattt ataatttgtt 68340  
gtactccaac cgtccgtctt atttaaaaaa aatataaaaa aaattaaaaa aataagtcac 68400  
acataaaaata ttaatcatgt ttatcatct aacaataaaa aatactaatt ataaaaaat 68460  
ttcataaaaa acggacagtc aaacattgtc acgaaaatct aatgtttgcc ttttttttta 68520  
agaccaaggg agtatctacg aacaaagata atacatgta taatcatgaa gcccatgatg 68580  
tgattagccc ggccgtttga ctaacctcac gagctacgtg gctgacaagt ttaacttgtt 68640  
aactccatca ttccggatac ttagagcatg tacaatagca gactattagc cagctataaa 68700  
catattttta tgggataaaa gatgagagag aagagcagcg ggctacagat ttatagccag 68760  
ctgcagcacg gactccaaga cgcaatatgt gtatgacagg taagaccata tgttaatagt 68820  
atagtaagca actattttat aaactggcta ttagatcggc tatagataaa ttggagctag 68880

tagtggacta tactattcaa ctigciclia tatgatalaa atattgatat aactataatga 68940  
ttitgttaat gacatgttig tttatggaig gactatgtgg ggtcggtcgc ctccgtagct 69000  
gacaaaaata caaactiaaa acccctaict ataaaaatct aacttttgtt tataaatata 69060  
gatataaaag ttcataatta gagccicac ttttaaacga aaagagtact atgaaaacaa 69120  
ctcgtaatac aaagactaat tacgacgaaa agaaaatagt actgacaaga ggaaagcagt 69180  
gaactigcat actccctccg taaaaaaaaac caacctagac acggatataa cactatatat 69240  
ctagattcgt tcgttgtaat gaagtgtcac ctccgtatct aggttgggtt ttctgtacga 69300  
aagaagtatg agtaaatcta aagctatgta tacccttcgt caaaaaaaaaa aagtaaacct 69360  
tgtactggig cgtgtcacat cctaataata tattgttttt tatggagggt gtacagtiga 69420  
aaaaaatga tgtgttttaa ggatgaaaaa tatlggtaat gttggctatg taactctaga 69480  
aaaaaaaaatg cagtaataat aaaatgctaa ttigctggag tactagatta tagacaatcc 69540  
agtccaggac acgacacct cctactctc tccacttcca ctctcaccgg ccaccgcgcg 69600  
ctctctctct ctctctcccc ctctctccgc aagattcttc ccccaaatcc caccgatcc 69660  
accgccgccg ccgcctcgcc ggagtcctat cgctgccacc gccgccggag ccgcggccccg 69720  
acgccgccg ggctgtctg ctgtgtgtgt gaggaggigg agttgctcgc gctcgttccc 69780  
gcggccacct ccgcctgtg ctgcttctgc ttccgctggc attgcgggga ggtcgtgtgc 69840  
cgggggacgt gggggctcgt gttggagcgc ggctgccggt gaggtggggg gtgcggcgcg 69900  
gcgcggctcg cgctcgtgcg ccggtggcgc gggcgcgggg ggaagcgtac gggggagggg 69960  
gagtgtggcg gcggcgggcg gcggggtagg gacgggcgcc gccaccacca ccggctcgtt 70020  
cgctggcagg cgctacgcgt ccagatccgt acgccggtat gcttcgtctc gccgaactc 70080  
cttccatttg attagtatcc cctcgccgaa acgaggccig tgaggcgccc gctttctggc 70140  
tggcttccct gtactcgtg ctgtctctg cctgttgggt taacctgtt ccatcgaatt 70200  
tgggtaagcg aaacatcgcc tcataatgggc atttgggggt ctggcagcct taggctcgcc 70260  
atccgtcgcc gagcttccaa gtgaccggcg ctgttggta tatttgcctg ctgttccctg 70320  
tttgggtggct gcgctaaatc ttttgtctg cattgaattt atgccacca tatacagcaa 70380  
attactgagc tgaataaatt cggctaatta ggtccagcaa tatgacatct cgtggattga 70440  
atgctaagct gacattgtat cactgatgct ggcttataa taggttgttg agaagtgaag 70500  
atgtcgacag gtgaaacct gcgtcgagag ctatcatcca ggacgccgcc ttccggttg 70560  
aggctatgga ttgtgattgg aatcagtaatt tgggtgggtga tcttctttat actaggttct 70620



atgtgcctct ggtccatata ccgaaggaag ccgaagaagt cctttgataa gattccaglia 70680  
tctcaaatcc cggaigtitc caaggagatt gcagtagatg aagttcgtga gcatgctggt 70740  
gtcgaaaact tccgtgtgca agaaagccac gcgatatcgg tgcaggagaa acattacgag 70800  
aaagattcag ggaaaatgct ggcacacttg gttaggagta aatcgagtga tgccgataat 70860  
ttgagccaat gcagctcggg gtaccaatgt gatagggtcg gtagctcgta ttctgggtgat 70920  
gaaggcagct cgggcaatgc taggaggcac ttttctcaat atgcaactgt ctacagcatcc 70980  
cctctgggtg gtctcccaga attctctcat ctgggctggg gtcatgggtt tactctgaga 71040  
gatttggagc atgcaacaaa tcggttttcc aaggagaatg tcattggaga gggtaggatat 71100  
ggggtagitt accgtggctg actcataaat ggaactgacg tcgcaataaa gaagcttctt 71160  
aataatatgt aagagatcct gaaatctatt ctgcgtttta cagaactigt gactccttct 71220  
gatgccatca tattaatttt cttttgatat ggtgctgcag gggccaggca gaaaaggagt 71280  
tcagggttga agttgaggct attggccacg tcaggcataa gaatcttgte cgccttctag 71340  
gataattgtt tgagggaatc cacaggtaaa gctattttatc aatcaccttt gctgatggat 71400  
ggctagcttt tgtttctact ggcacattat ttacttgcac agggatgtag gattgctctt 71460  
ggtctatgtc cacttactca ccagattatc tcaagggata ggttattcct gactgcactc 71520  
cttatgctat cgattttttc ctttccaaat ctgatggtag gattcagcat gcccagtgac 71580  
agattatgct cagtcacacg aaaccttctt tggaccacca ttcttttacc atgaaaatgt 71640  
ggccatagct ccgaaagcta ggattcacta gaagcgcaca actgcttatt ggtttgttag 71700  
ttggctataa caaggcttta ctgaaatgta ctcccatagt tcattacttt gtgaatgcct 71760  
gttcttgttc ttacgtttc ttctcatgca tgttcaattc taaatttgta ttcatgatat 71820  
gtccaagcta ctgtattctc caaagaaaat cagaagttca ttacctaag tattttccag 71880  
ttttccgcca ttttggatac tgctctagaa acaagttaat aatatagata ttatatgggt 71940  
ttggccagtg ctgccttaagt gaccatcgag atagaaatig cttaagaaat atactaagat 72000  
gttgagtgtc aggtgttttc ggataatctt gttaccaaca aataggctct atgaatataa 72060  
tggtgtctgc ttacgttaat tcaaaatcca cactcagcca aaataatctg caatagggtg 72120  
ttgaaaatat gattatgttt ctcccttgtt ttcatcatga ctacagaaat gaacaatgtt 72180  
gctacatctt gtaataattt gtggttttca attgaacaaa acatccatca aatgatatct 72240  
acagcaatat attttgcact tctgagcaca caatagggtt gagtgtattc gagtcatgggt 72300  
cattgattta agctttttat ttacttacct aaccattgat ttgagtgtat ctaaggagtt 72360

ctgtttccac aagtacttta tgttaatggt gtctccitat gctttggcca tccaaactca 72420  
ttactgttgi ttaatatitit tagtggtag tgggtgccaa atctttctit gtgtacatca 72480  
tactatgtit ttgtagtcta ttaaaacticc atcctatcat ctgacttgii atattccagg 72540  
atgcttgtat acgaatatgt gaataacggg aacttagaac agtggcttca tgggtgccatg 72600  
cgccaacatg gtgttcttac ctgggaagcc cgaatgaaag ttgttcttgg aattgctaaa 72660  
gcgtaagaaa caaaccatcg tccccgtcaa aaagaaaaga attgttcttc actttagctc 72720  
ttttatatgt atatgttttag ttgcataacc cattttccat aactgaatig gtatacaggc 72780  
ttgcttattt acatgaagca atagagccaa aagtgtiaca ccgggatatc aaatcaagca 72840  
acatactaata cgatgaagaa ttcaatggca aactttctga ttttggctig gctaagaatgc 72900  
tgggtgcagg gaagagccat atcacaactc gagttatggg aacttttggg taigtigata 72960  
tttttttggg gttagtatta atctttccta tgcttagctt ttactgttgg aatgtgcagt 73020  
acttcgctta ttcatacagt ataaaaatit acatgctgcg aactttgtcc ttcgatatatt 73080  
ataacaggta gctttctcat tgctatcatt gattcatttc aggtatgttg cccctgagta 73140  
tgccaacaca ggtctgttaa acgagaagag tgaigtctac agttttggtg tgctattact 73200  
ggaagcagtg actggttagag atccagtga ttatggccgg cctgctaata aggtagcat 73260  
atatcctaca atctcatgcg tattatgtat gttacaaaag tccgtactat tggaaattat 73320  
tttacggcaa aataacgtct atactaggag agacgaatit gcttcaggtg tatggctgtc 73380  
tggcagttgt ctactgtcta gttacccctg tctcacitit acagtctatt gttttattit 73440  
tcaggagctg actagctgta taccttgtca tatataacaa cactgtaacg tggatgccit 73500  
gcaggtgcat ctagtggagt ggctcaaaat gatggttggc acaagaagag ctgaagaggt 73560  
agttgaccct gacatggagg tcaaaccgac cattcgggct cttaagcgtg ctctcctagt 73620  
ggcacitgagg tgcgtcgacc cagacictga gaaaagacct actatgggtc atgttgttcg 73680  
gatgctcgag gcagaagatg tcccatcccg tgaggttgta acgctttctc ctttcctgca 73740  
ataacattca tcatattata tcattgcaat aaatctgaag cttttgctgt aatcctactg 73800  
aaggaccgga ggagccggag gggcaacact gccaatgcag ataccgagtc caagacaagc 73860  
tcaagcgaat tcgagataag tggcgataga agggactcag ggccatcagc aaggtttcaa 73920  
ctctaagaag acggtgatca tagtcaagaa caatggcttc aaaactctat gcagtaacat 73980  
ggtggttggc agagaaaaag gggatattct ggagggcatt gcattitgia ttgiaggctt 74040  
gcatggcggg agagactgga gagagcacag tgtctgatga tggatacccg gagacctgta 74100

attcccatc agtattctgt ttgttagtca agcagcttgt acagatcggt gtcgtttcca 74160  
ttttttcatt ctctcggttt ttttgttttag gaggctcttg gattaccagt acgaaccgct 74220  
gtctcttttc tagaatcacc aacatggaac ctatcaatai ttactactag tactacgact 74280  
tgctttcttc ttgctgagat ctatcatgta ctgtacataa ctgacgtgtt cagctgcact 74340  
tggacaagia gatgctcggt ctgtatgtcg aatttacttg atgaggtcga gcattaaagta 74400  
ccaatggctgc agccggcttc tgitttagttg tgctgacatg cggcggcgac ctacgctgt 74460  
gtggcccatc ctgtatcttg ggccgaaact gtagcaacgg gcgtacggcc catctatata 74520  
gggatitgtc ggcccgttgt agatgggccc gatcgggatt gcgacttacg tgcgacccat 74580  
ttcggttggg ccggtgggcc gctacticat cttagcagtgg tcggcggcag gggttcacaat 74640  
tccaatagaa tccaaacatt attggattga gttaaaaaa caaaccaatc ggctttttgt 74700  
caggttcaga aaattttaaa ctgaatttta attttttgac aaaaatctat ttagatttcg 74760  
tctgtttttt taggtttgtc aacggattca gcgaaatccg atgatatcgc tcgtgagtgg 74820  
atttttgatc cggtatcgag attgtgaacc ctgttcgcgc attgccctgac aaagacaacc 74880  
agtgaagcgc cgtgcgcgcc gcgtgcgcgc cgcgtgacgc gaagatgcgc aggaaggaac 74940  
aagctggcaa gcggcgcgcc catgacggcg gcggcgacga cgacccgcgc gcgtgcgtgc 75000  
gtcaacgcac gcgaccggcc gagatccgtc agtggccgcg gctatatata atacatcgtc 75060  
gcctcacacc cccacacac cgagtcacgc ctgcgccgag ttagagttcg tagcggcgaa 75120  
ggatatagcc atatatata gatggcgatt gggttgggtg gctgtctgcgc cgtgtctgtc 75180  
gcggcggcgc tgctcttctc ctctccggcc accacatgta agcacgcca tctctctctt 75240  
cttctctctt tttcttctt tttttttttt tttttggaaa tgagccgcag ctgacaaaaa 75300  
gatcactcac acatggatac actgtcgtga cactaaccaa tgcctaagcc attttgtttt 75360  
cttgttttgg atttttcttt ttaatgttat cacttttgc tttgtctctt gcagatgctt 75420  
atgattccct ggatccaaac ggcaacatca cgataaaatg ggatgigatg caatggactc 75480  
ctgatggcta tgcgttaagt agcggttggca gtacaccaac atctctacct ttattttcgt 75540  
ctcaaccgtt acatttacac tatctgttct tactacctct aataaaaaaa tatatttgat 75600  
gttttaaaaat ctattaaagt cttagagatta ggaaagctac acatggtttt atgttttgat 75660  
actattaagt agtatatttt ataagttata ttgaaggctg gggtttcaaa agtttgacta 75720  
cactagatct tatctaaagc gtctaatgat tactgaacgg aggaagtatg aacttataga 75780  
cttgaagtta aacagcatag ccacatctct tcatgtatct ttcatccgtt tcatattata 75840

agatttticta gcattatcca tattcataata tgtgcgticta gattcattaa tatctatatg 75900  
 aattigggcaa tgcataaaaa tcttataacc tgagaaacgg agggagtatg tcgcaaacaa 75960  
 caacaacaat aacaacgagc aaaatctigta tcgaatccgg tttccctctt gtaactigiat 76020  
 caaagatctg tcccttgaaa cgccccctgt tcatcaggcc gttgtcacac tgtccaacta 76080  
 ccagcaatic cggcacatcc agccaccggg gtggcagctg ggggtggacat ggcagcagaa 76140  
 ggaggigatc tgggtccatgt acggcgcgca ggccatcgag cagggcgact gctccatgtc 76200  
 caaggagggc agcaatgtcc cccacagctg caagaagcat cccaccgtcg tcgacctcct 76260  
 cccgggcacc ccaatcgacc tgcagatcgc caactgcgc aaggctggat cactgagcgc 76320  
 attcagccag gaccgggcaa attctgccgc gtcgtttcag atc 76363

<210> 28

<211> 53905

<212> DNA

<213> Orza sativa Asominori

<400> 28

gatcagtgag tgagagtgat gtgctattga ttttcgtcta ggattttgct gtgctcttct 60  
 tcttcttctc ctctctacca agaaagatcg atggaggaga atttgttaga cgcgtttctc 120  
 acgaattact tagctgttaa tgatcagctt gatgigtacg atatgatggt gcagagtga 180  
 agttgtgttg ttcactgggtg gatcatggga tgggaatatg ggattgttgt aagatgiaac 240  
 tcaagtgttt tcttttttgg gattactttt ggtaataaga gcttgggtga tcgaaaacta 300  
 cagatgggtt tctttttaag ttgtatgac tctgttagagt ttttgagtaa tttgtagtgt 360  
 tgtaccctat caaagatcat ctctagctgc ctctgagctc tccaactcta tatgtccatc 420  
 tctagtatat atgtcccata tttctgactg aaaattttca agtcgggttg tttccctccgc 480  
 ctggatatct tttcagctaa ttagattttt tttaaattgat aaatttgcta aaagcttgtt 540  
 caaattcagc taagatctat tcaaactica atttctctat cgaaattccc ggaaatttca 600  
 attcaatcat tcccataac atgccgattt ccgtaatatt gaaccatgac atgtaaacaa 660  
 cgaaggaatc aagggcatai ttagtttcat ctacatcga atatacggac acacatttga 720  
 agtattaaat gcactctaat aacaaaacaa attacagatt ccgccagaaa actacgagac 780  
 gaatctatla agcctaatta atacatcatt agcaaatgtt tactatagca ccacattgtc 840

aactcatgac gcaattaggc ttaaaagatt cgtctcgcag tticctgacg aaccgtgtaa 900  
ttattatitt ttctacgttt aatactttat gtaatgigccc aaatatitcaa tigtgacaacg 960  
tgaaaatitt tatttgggaac taaataggcc ctaatatict ttcaagatat tagaatagtt 1020  
atccctctcc acctccctgc acaaacagtg aacttctttc tcttgggca caggagtagt 1080  
agcagctccc ggaaacagaa agcaatcaag caaagtcctg aacctgaagc atccigaaac 1140  
cagcagacgg cagaaaccag tgggcgcagg cgatagcagt ttttcgtggt ccggcgtaca 1200  
gccaaaatac tggccatcgg gtgcctacat agaatgagtc cactggacgc agctaccacc 1260  
gtgtgtgcta cactgaccgc cgtcgtcgt cgaccagttg tacggggctg acttattctg 1320  
aatttctaat ggtttatttg ggggtttaga acactgaggg gtgcctttaga tccaaagatg 1380  
tgaagtittg gcgtgtcaca tggglatia tataatagtg cgcacagggt gtttgggcac 1440  
taataaaaa actaattatt gatcctatac gataagctat ataatactcg atgtgacacg 1500  
ccaaaacttt acatccctga atctaaacac ctttttaaat agagtatttg gtgtgaaata 1560  
taattttgat ttgggaagaa ggtgagtgag atttggaaaa aaaaagcatt tcaattaaaa 1620  
aatttggcag cagttaaata agaaactact cggttttgta attaaagtga ggttttggca 1680  
cttctttgcc ctaaactggc ctccatttta taaagtgaga accgtgcagc aaaagcctga 1740  
aaaggcaaaa agaaagaaa tgtagagggt tticaggagg atacaactag gtgggtctct 1800  
aactctctat gcagctgigg tctgtggagc aaaacgatga aatggaagac gggacgttga 1860  
cgagggtgaa gaaaacgagc gtttgaccag cgtcaacat ggcgigaaca gtagcaccac 1920  
taacctgacc gagagggtga agaagaigca atcaacgggg tactatagtt cccacgaatt 1980  
tcccagcaac aacgggttgg ttctcactac tcacgaattc cctgtggctc aacaactact 2040  
agtacatcct ttgttccatt atgataaaaag ttctatctta atttttattt acacgttttt 2100  
caaactgttt tttaattttc tatataaaaa atacttaaaa tatcaaataa aatctatttt 2160  
tggagtittta aaaaactcaa ttaatcatat atattatga cttattttat ttacgtgga 2220  
ctaaaaatac ttcatcttca tttaggttat gtcttttct catcaagata catgatacat 2280  
tagcatgttt ttcaaactgt tttttaattt tgtatataaa ctactctaa aatatcaaat 2340  
aaaatttact tttaggggtt ataaaagtaa aactcaatta atcattacta acttgtttca 2400  
ttttacgtgg actaaaatat ctcatcttc atctaaggig gtgtttggat ccaaggacta 2460  
aattttaatc cctatcacat cggatatttg acactaatta gaagtattaa acatagatta 2520  
atgatgaaac ccattccata acctgggact aattcgcgag acgaatatai tgagcataat 2580

taatccatga ttagcctatg tgaigcigla gtaaacaigt actaattacg gattiaattaa 2640  
gctiaaaaaa tttatcttac gaattagctc tcatittatac aattaatitit attgttagt 2700  
tacgtittaat actitttaati agtatacatc cgacgtaaca ctgacgata caaacaccaa 2760  
ctaaatcgaa aatcaccgaa tggctcgtca tccctcccaca tgagatgcca agatggaaca 2820  
ccaacaatcc aacggctagg aagcgcccca tcccaccac cgctaaccg ccttccatg 2880  
caagigggtc ccacccctc cttcttttt ttttctttt taaaaatccc cttcccttc 2940  
ttggctagct agctagcttg gcccaacgcc acgagccgag ccgagcacat ccggagccaa 3000  
gccgagctca gcgctcagc tccccctct cctcgtccca tcccgggtt cctcctccga 3060  
tttcccccaa atccgcacgc ctctccccct cgctccatt tttccgatt cccaattccc 3120  
aaatccggat cagccgcagc cgcagcagca aaaaatttcg aaatccaaat ccaaaccat 3180  
ccccccacg acgacgtcac ccacatcccc acccccgca gacgagacga gacgactccc 3240  
aaatctctct cttctctct ctaigcgcgc cgccgccgcc gccgcagcag cagcagctag 3300  
gaggcggagc agcagcagca gcagcagctg agatgatcgt gcgcacctac ggccgcagat 3360  
cccgtctctt ctccgacggg ggaggagggg agcgcgggcg cgccgggtggg ttctcgtcgt 3420  
cgcaagacgc gttcgaattc gacggggagg aggaggacga cctcgtctctg ctggggctgt 3480  
cgtcgcagtc gtcgcacccg ccgcgccgt cgcaggagtc gtcgtcgatg tgggacttcg 3540  
acgaggaccc gccgccgccg ccccgccggc ggccgggggag gggtaggggt ggggactacg 3600  
cggagcccg cagggcgccg gcggcgccgg cgccggccac ctgcctcatg gaggcggagg 3660  
agtacggcga gatgatggag agcgtggacg aggcgaactt cgcgctcgac gggctgcgcg 3720  
ccaccgccg gaggcgggtg cgccgggcca gcttctctgc gctgctcggg atctgcgcct 3780  
ccgcgccgcg ccgccgcgt ctccgggccc aggggtcgtt acaccaaaga accctctt 3840  
ttttttctt acttgctcgc gctgtaagla aagaataaca attcgcgtt ttgctcttcg 3900  
ttcgcgggca atcttggtga ggaatctgt tagggttatg aaattgggca gccagtctt 3960  
gtttctctg cgtaatcttg gcggaaacag tgggattttg tacgattatg gctccgtaat 4020  
cggcatttct gtaggaaatg aaccacctt agggcatttg acctcgaac agcatgcttg 4080  
gtgttgcaat ccgtagctat tgccttcac ttaggcacaa gaactgttc tgaattatga 4140  
tttaccact tgtgtttgtt ttcttggtct gagtttctt gcttgggttag ggttaggggt 4200  
atcaccgtgg tggatgcagaa ttagatgttc gctactgtc ttaacctctg cttgccccaa 4260  
tttggtagcg agtgttacag ctgggttttag gaagtgtgat ctttagcat ttctagcatg 4320

ttggctctctt tatttttgcta atctcacatg gttgtagagg aaggaagcat agtgactgat 4380  
gatgaatgcc tagatactag aaatacatct ttattaactg aattaggatt gcttgggiat 4440  
ctaigtatag atgactigtag aatgttactg ctggaaatgc tatccaatat ccatigatct 4500  
ctagcctaata atatctctcg aggccaagag atcagtcaat ttigaacttt caggagagtt 4560  
tctatttggg acttaatctc ttttatttgt tacttttggg gccitggctct ctttticatga 4620  
ttgctaagta gacaggtaaa gttctacctt aaattattct taaaagtcca aaatcgcttt 4680  
agattaagga gtgccagcca gagccttagg cagagtctta taaacaaaa gcacaatgct 4740  
acaatgttca caaaactttt gtggaatttc cacttgagct gtataaacat cgcaatctac 4800  
tgtgaataaa agaagcactt gatggaagtt catgttagca aatgacatgt tttctgtgag 4860  
gaggttgatt gcttgaactg ttaiggaact ttgcaacttt ttattttact tcgtacccat 4920  
ttaigctaata gtgcacaaaat aaaatigctg agagtataaaa tgtacaactt gttacgcacc 4980  
agcacacttc ctatttgiat ccattttcct gtigaatttc aaatgtattc aattgctgaa 5040  
attgttccat tcaacaaaca catattccgt taatgaaatt attatacatt gcgttttgtt 5100  
ttcttactca caagtgtcct cttttcttat atcctataga ttgggtgcaac aaattattga 5160  
tgcaattttg gttttgaaca ttgatgatcc tccctgcact attgggtgcag ctgctcttct 5220  
attcgttttg gcaagtgaig tgagtaccct tcaatcccat ccttgtgctt ctgtgcatgc 5280  
ttcattctat tttttacgca tatcgattgt tttcttttat ataacagccc ataaaaataa 5340  
tcacatcatg gcaaagttaa ttatttctcc agtacagtta tataagtatt caccactttt 5400  
ccatgaatat cttggcatgt gattacaaag aagattattt aagaaagtcc atgcttttat 5460  
ttcatcattt tgtttgaagt tgaactttta tttatgggtgt aaatttcagt taatatgtct 5520  
agcagctcgt attctttaat ggcataactt cacttgtgct tattctccaa tatctccctt 5580  
cttgttgttc aggttcaaga aaatcatttg ttggattcag aatcttgtgt ccattttctt 5640  
cttaaaattat taaatccctc agtgaatctt gtigattcca aagcaccatc gataggttcc 5700  
aaacttcttg gaatcagtaa agttcaaatg cttaatggat caaataagga ttctgactgc 5760  
atttcagagg aaatcccttc aaaagtigaa gagattctct taagctgtca agagatcaag 5820  
tcgctcgaca aagatgacaa gaaaacaaca aggccagaac tgtgtccaaa gtggcttgc 5880  
ttgttgacaa tggaaaaggc atgcttgtct gcgttttcag tggagggtaa gttttaatca 5940  
aatctcttgg tcatgatctc cttttatgac cattataatt atttttatga gccaaataag 6000  
cagttgccat aagttacata gcacctgttt acaatatcca tgggttggtt gcttagccct 6060

ttgcttcacc tgcctttgat tgatgacttc catccgtgtt gcacaactga attggagtaa 6120  
ttgactgcac tagaagcacc tatggccatt gtcatactag gaaggttttc ctttatcaaa 6180  
tatttgattg ttacagagac ttctgacact gtgtccagag tcggaggaaa ttttaaagag 6240  
acattaaggg agttgggcgg tcttgatagt atttttgacg ttatgatgga ttgccattca 6300  
acattggagg tgagatctcg ctaacatcgc atattttaca cticctttgt tcaactctaa 6360  
aggatggtgc aagttttgtt cttttttgcc attttagcct taatgtgctt gaagccacat 6420  
gaaagcaatg ctgtgtccaga tacatagcca aaggttgtta tattttggga catggaaaat 6480  
gcttgaggta gtaactatit tcatcaggac atggaaaatt ggctgcatca caaattatgt 6540  
tgtttcatgt tgcaaaatag ttttttaata cttttttatt ctgcatgtgg tgttagtgtc 6600  
ttacagtgat tccctgatg attatatccc ccacgataat aatacttgac atatctacac 6660  
caatgggaca ttattcatit ggaigtact ttccagcta tacttgctgt tcttgcataa 6720  
actttggagt aaattgcgt tccctttaag agataaactg ctgtgtgctc ctatctgtgt 6780  
actttttatg cccccaacta ataatgcaat catattacgc tgataaactg aataaataaa 6840  
ttaacaatat acttctgggtg gaaacctgt gtatcagaat ctcataaagg atacctcaac 6900  
ttcagctttg gacctaaatg aaggaacatc ttgcaaagt gccgctctcc tcttgaaatg 6960  
tttgaaaata ttggaaaatg ccacattct aagcgatgat aacaaggtaa tgttccttat 7020  
atattctgtt tcagtttagt acccatitc ttctctgtta ccatctctc ccttcatttg 7080  
ttctgtgcaa aatgtgcaa cagtgtgact ttgtatttct gcttaacatt tttctttttt 7140  
tcttgaaaag cagtataaac tcttacactc attttgcttc ttgcagacc atttgcttaa 7200  
tatgagtaga aaattgtacc cgaaacgctc ctgctttct tttgttgggtg tcattatcag 7260  
tattattgag ttattatcag gtattttct taataatata ataigtccgc taacacaata 7320  
aaatgtttta aacatccagt atgttaaagt tgcagctga cgcctatit gttttgctgc 7380  
agctctttca atactgcaga attctctgt tgtttccage tctacatate cgaaatcgtc 7440  
taaagtctct caacagagtt gctctggtaa taacaaacac caaatttgtt tgatcaactc 7500  
gttggctttt ctgtgcactg ttccaatata gtttggctgc catccaagtc tcaactacaga 7560  
tgttgaactt gacctgacac ggtggcacca atatttataa aacgctacct gatattttta 7620  
atatttcatg ttccctgacc cagattatct tgttgggtcc tcatataagt ttaatttagtg 7680  
tcgttcttga aactttgtta tgcagcagat gtcatggggg gaacttcatt taatgatgga 7740  
aagcgcaaga actcgaagaa aaaaaacctt ttgtcgaacc agacacgcca tagttgctta 7800



tcttcaaaat cagaagtltc tcatattact atatcttctg gtagtgaigc tggctctgca 7860  
cagaaggcat tcaattgttc tccatctata tcaagcaatg gggcatcaag tggttcatia 7920  
ggcgagagac atagcaatgg tggtgctttg aagtigaata taaaaaagga tctgtgcaat 7980  
gcaaatccaa ttagaggctc aagtgggtgg atttcaataa gagcgcacag ttctgatggg 8040  
aactccagag aaatggcaaa aagacgccgt ctatctgaaa atgtaatcac cgacagtggg 8100  
ggcggatgat acccttttgc ttgtgatgat gtgatcagg agccttcaaa ttgggaactg 8160  
cttgggtccaa aaaagaaatc gcctcagaaa catcaagaca aatcaggaaa tggagtgcia 8220  
gttgcaagtc atgaaccaga ccaacctgaa gatcttaatc agtcgggtac aacatctctt 8280  
tttagtgcta aagatgaatc cagtcttttg gaagactgcc tcttggcatc agttaaggta 8340  
attaaatatg ttctcttctg atcttcttg ttctctcttc aagagaatat acattcttgg 8400  
gtcacagttt ctgggtttgt ctttgtgact ttgttgagtg acataatttg aattcacaaa 8460  
atttcccttt caatatggct cctcaatcta tagcatctgt cgtgtatgta ttctgtacaa 8520  
aatagtattg taacatctcc tagaagaaat tggcaccatc catacatac agtagcaatt 8580  
tatgagacgt gatcttgatt ggaggtttag gacagagcct cgagctaaat tgctattgta 8640  
ttgtatctac tatcttttag tacatgatat gtgctgggca ctctgtgctt gagtgtagt 8700  
agtgcittaag ttacatagt tcagctaaca tgcatagta agacagtta tgattaaatt 8760  
taagtgtaga aagaaggta tttcaaaaga tttttaagga caatataatt gtttcaccgg 8820  
gactcatgtt tgttctgact gtgagcctaa tgttaccctt acatgccctt acattgtcta 8880  
ttttttatcg ttttatgaga tcttccaaac aacttgatct gtcttaatgt ttttttgcta 8940  
gttccctttt tggatatctg glaaatgggt aggccgaagt atgaactttg ctttatgtt 9000  
tcaaagaaaa tgaacaact cctggaaaag tctaattttg gtigcccttt attttgctga 9060  
ccgtattggc acacatctaa ttctgtgtt ctttctggc aggttcttat gaacttagca 9120  
aatgacaacc catctggttg tgaattgatt gcgtcatgtg gtggacttaa caccatggcc 9180  
tcttgatca tgaagcattt cccctcattt tgtttgtcg tggacaacaa ctataacacg 9240  
agagatgtca atcttgatca tgagttaatc tcttctcaaa acagcaaggc acaccaggct 9300  
aaaattaagc aattgcgaga tcatgaactt gatcttctgg ttgccatatt gggcttgctt 9360  
gttaaccttg tagagaagga tagccttaat aggttaagtc ctacatgtt tcttccatt 9420  
tgctcaattc atatcagtgt tactgttctg gcagttcctt ggggtcagga ctcagaaaca 9480  
tccaattaat gtatgttctc tcttaacgac tcagaaatc ttataacct ctccacaggg 9540

tacggctttc atctgcccgt gtccctgttg atctatctca gaatccacag agtgaagaga 9600  
cacagagaga tgtcatagca ctccctcgtt ctgtattctt agcaagtcaa ggtgctagtg 9660  
aagcttcigg aactatatca ccggtaattc aaaattcttc aagttccitt tgtatgtaga 9720  
ttatatcttt gtaaaactcg gcaattatta cctgctcttt gtttcaaaaa gcaglatitt 9780  
atlttgctcc ttagcatagg tcagcagaac agttgatctt attcagaaaa caatatittg 9840  
catgtaacat actgttatct atgagatgaa aattaatgca tgtgtaataa tgtcaatgat 9900  
aaatatittg tatctgaatc cagtctacca actctagtta gaccgaaatt actgagggtc 9960  
tatttcaaag aataatttag tgcaccattt gtccaactac tatgaagtaa aatgglatte 10020  
ccttctattg acatcgggtt agaagtgaaa ggccatctta atgcaatgtt ctcaatgcca 10080  
caaaccacaa aatttcatta acacatacag attattatta acatagctat aaattggatt 10140  
tccagaagct tgagttgaat ttattttgtt acaattgaaa gcactgggaa catttagcatt 10200  
tttttttagt tcttggttat tgcattttat aatgttatac agaacttgtt acctcacaat 10260  
gcaittcatta tgacattcta tgaaccattt gattgactgt tgcittglaaa caacaggatg 10320  
atgaggagtc tttagatgcaa ggagcacggg aagctgaaat gatgatcgta gaggcciatg 10380  
cagcccttct tcttgcgttt ctttcaactg aaaggtttgc aatctgtagt tgaatggattg 10440  
ttttattaat gtctaaactac ttgcataatg tcagcactat ggcatttaac ttatactgtc 10500  
tgttaactgc aacagcatga aggttcgttg agccatttcc agctgccttc caaataacag 10560  
cttaaaaaatc ctigtgcctg cgctagagaa atttgggtta tgtctccata attcttgaac 10620  
tactgtttgt ataaaaaagt atggatgac tttgaattta ctccattttg gaaatcatta 10680  
atttttcatg tctgagggtg gaggtgtcac cataattgta ctcccatcc aggaagcctg 10740  
tttgcaaaat ttacataaaa taaggaaaat ttgaacttgt ttcaagtgtg aatagtaaca 10800  
ggatgtttta ttcttcaact ggagaaaaca ttccggctgg gacttttaac ctttaaaatg 10860  
ctagtgtgct cccactgtaa gattgtctgc tgtcacattt gaaactttgt gtaatacttt 10920  
tatactacc cttagatga gagacacaat ctggtaaccga gtttaagtat tgataactcc 10980  
cagttgaagt acagcaccaa atcaagccaa catgttggct acgtaattaa atgttctctt 11040  
acaacagata gaggttaaaaa gggagtttct aagtaatcaa cctcttacc tcttggctta 11100  
gcactccagg cacaactctt tcttaacttg cgatttagga cttgactctg agaatatgtt 11160  
gtgcccacac tggttgagt catgcctatc taagctgcta gttttgttc attttgatta 11220  
actctgaagc tgccctgagct tattctgctt ccatcattta ttaatccatc atgtttctct 11280

ttcagtcgtt ccatctgcag ctcaatatga tcacagagga aacgcactca gctgtcacag 11340  
aagttatcga gaaatgcaaa ctttcataga aagagtgaag aggggccctgt acagatcaac 11400  
taacaacctc ttgagcagca aaaagcatac acacaagtgt ttgtcttggc ctggggctct 11460  
gcagatggac tgatactctg acctgcagtg ggcttgggag ctaacaatgg ttcatctctt 11520  
ttttttttta tgttttcccc tgttgttttt gctcatgttt tgtgtaatit tttcttctca 11580  
tctagcgaig ttatttttct tagcatgatg ggagtagccc tctttttttt tttcttctaat 11640  
taagtgtaaa gtagcaacag catagggatg aatgttcagt gtagtgtgtg gtgtttcagt 11700  
tattcagaga cgtccataca gtttgtacct tgtgaccaca cgtcttaatc tgatgaagct 11760  
tagaataaat cacatgttag caatgcaata tcatctgcgt cttctctcac ttgggtggcc 11820  
atcaaattct gtgtagaagt gtaggttgg tgtgctgttg caaatgccgt attccgctct 11880  
gttttgttga agttaagaag tccctagtgt aaataccgat ttttcatgat ctgggagatt 11940  
gatgcaactc tgattgcagc atttcttttt attagaatgt acactccatg ctatcatgat 12000  
gtttattgtt tagtactaca agatttgggt aaccattatt ttaatatcat aataatttta 12060  
taaaatcttg gagtaacaag ttcataatac atgatagcat aactttttga ggctagtcta 12120  
tgtatatgtt ctcttttgtt tttaaactaa gcactcaata aattattgat ggctgttaatt 12180  
ttctgaaggt ttaccgggt tgggcccgtg ctttataaat agcttcggca caaaagacaa 12240  
aacggtcctt ccaacacata aatggttgag ttacgtttt cattatcttt ggtaaaatca 12300  
agtccaccac gtagacactc ataacaaaag ttgaatatc ctacagaaatt ttgacttgag 12360  
tctatcttac ctttgataac ggacatccaa ccttccctcc ctccctgaac ttatatttat 12420  
tcatattaca cctgaacttt atattattca tattacaccc tgaagtgggt ttcatttaat 12480  
tgcatatcat ctgaaatagt ttgacaacgt gagatgcaca aaatctacac gttcgtctta 12540  
agttgcaatt cattttatcc cttttctttt tctctcttac ataggaatat caatagtact 12600  
aattcacatt acaatatagt ataaattggt gatcgattat tggcaatata ctatattaaa 12660  
tattcaaaac tagtcattta agctgccaaa taagttaaacc actatcgaaa accacaatat 12720  
aaatggcatt acaaaactta gggggttgaa tatccaattt taaagtcat gatgctagag 12780  
gaatttctat caaaagtita tgggtacata tggacttttt ctttttttaa agaagctatt 12840  
cttatcgtaa acgttaaata tttttgttac tttatttttt atgatigaaa aaaaaactta 12900  
gttttcaaaa tgattgggtc gtatacaagc atcaattaga cttaataaat tcatctaaca 12960  
gtttcctggc agaaactgta atttgttttt gttattagac tacgtttatt atttcaaatg 13020

tgtgtacgtat tatccgaigt gacaacccaaa cccaaaaaatt ticcctaact ccatgaggcc 13080  
ttacagatat atttgatggg tgtaaagttt ttttaagttct ttgggtgcaa agttttttaa 13140  
gtatacggac acacatttga agtatttaa atagacaaat aacaaaacat attacatatt 13200  
ctgccigtat acaacgagac aaatttatta agcctaatta atctgtcatt agcaaacgtt 13260  
tactgcagca tcacattgtc aaatcatagc gtaattaggc tcaaaaatat tcgtctcgta 13320  
atttacatgc aaactgtgta attgggtttt tttttcgta acatttaata ctccatgcat 13380  
gtccaaatat ttgatgcgat ctttttggcc aaattttgtt ggaatctaaa caaggatcaa 13440  
atttgctgaa tttttccaga cgtcacggct tgttcatcca tcgttcgcat cgcgattcgc 13500  
caccgacgcc ttggtttcca acgaatttta tcatccgctt aaatacatcc aaagctctcc 13560  
atcgccatcg gcggccaacg gcgaccgctc cgctctaccc aatccacca tccactcgcc 13620  
gccgccccct gatccaaagc ctccgccgcg ccgccgtcga gaggaggagg aggaggagga 13680  
ggaggaggag gaggcgtgag cccctaiggg gacctcttc cggccgcgtc cgctcgccca 13740  
cgccgccggc gccggcgacg ccacgccgtc gaccgcgcac ggtagccacg cgccctcga 13800  
gaggcccccc ccccgccgtc cgctgatctc tcttctcatc ctgtttgggt ttgggtttgt 13860  
gatttgggtg ttttttttt tccgcagcgg ttgttggtgag cggttggccgc ggccgtggcg 13920  
tgtagtgcca gccgcatcgg gtgcgccgcc gcccggttcc gcaggttgcg gtggcgacgg 13980  
cgagctggag gaggcggagg gagaccgtgg tgagatcgga tticgccgtt ggttggtgccg 14040  
ctaccaatggg ggattcgccg caggcgctct caggtttgca gcctcctcca ctctctctc 14100  
gcaaaatgtg ttgctatgtt cctctcgctg ggctggcctc atagccatta atgtagtgtg 14160  
ctggaacatt acattcgga cgttgttggc aattgcttga caaaatgtgg aattgtggag 14220  
gggagaaaaa tcgtttgaac ctgcagtgac aaaattgcca tctataattt taaaactgaa 14280  
ggtgtggaaa tcaaacataa tcattgccag cacatcatc ttgttaacca cttgacata 14340  
ttgttggctt ataacagtta gctccacacc aacttggag gtgtcaatgg aatgtaagta 14400  
taaattgagg ataactggca gtgtttaaga ctttctacag aacttgtagc agctaaaact 14460  
agctattgtg catttatgtt tcatggaatt tgagcggcaa tggatatctt ttactaagac 14520  
gtataatgca aaacaaaaaa aaaaaaact atgtctatgc agtttacatg taatgtgcgg 14580  
atgcaataa aatcatgttc atggacaaac taatgggatt cataccaaat tccagaattg 14640  
catttcttat gtggttactt ttgtttgttg atttggttac cagacatcga tgtggtttca 14700  
agggtcagag gggtttgcct ctacgcggtg actgcagttg cagcaatctt ttgtttgtc 14760

gccatgggtg tggttcatcc acttgtgctc ctatttgacc gataccggag gagagctcag 14820  
cactacattg caaagatttg ggcaactctg acaatttcca tgttctacaa gcttgacgtc 14880  
gagggaaagg agaaccigcc accgaatagt agccctgctg tctatgttgc gaaccatcag 14940  
agtittcttg atatctatac ccttctaaact ctaggaaggt gtltcaagtt tataagcaag 15000  
acaagtatat ttaagtcccc aattattgga tgggcaatgt atctcttagg agtaattcct 15060  
ttgcggcgta tggacagcag gagccagctg gtaaggctgt agtctcatcc ctgctttctt 15120  
aagtagacat atatacattt acagtatttg gtaaataaac aagattttat gaatcatata 15180  
tgattttggg gaaaacacaa aactctcttt gttaggctgcc ttgaacatag ttctgttcac 15240  
acagttatag caccittctt aaaatgaaga acttltgtgc atacacataa ggccaaacca 15300  
cataatgaat ttgttttatt tctatctttg aatgttagca tctgttttgt ttaatgcatg 15360  
atcgcccttc tatataattg tagtatgtca acattgtatt ccatgctgag cataacaaat 15420  
ggtttgttaa aattcaggac tgtcttaaac ggtgtgtgga tttaggtgaaa aaaggagcat 15480  
ctgtattttt ctttccagag gggactagaa gcaaagatgg aaagctaggt gcatttaagg 15540  
ttcagtaacc aaacttaggt tacattacat ctaatgagat ttttatattc agtatataat 15600  
gttaaccctc tcatgggtga ctgacgtggg tataaatgtc cccagagagg tgcattcagt 15660  
gtggctacaa agaccgggtc tctgttgata cctattactc ttctcgggac agggaaactg 15720  
atgccttctg gaatggaagg catccttaat tcaggttcag taaagctcat tattcaccat 15780  
ccaattgaag ggaatgatgc tgagaaatta tgttctgaag caaggaaggt gatagctgac 15840  
actcttattc taaacggta tggagtgac taaagaaaga tgggtgtttt ttttattata 15900  
tggaacctat tcaaaggcac agacaggctt tcaaggctaa gcttgttaca ggtactgata 15960  
ctagttacta attactttcg taatcagtat aaataagctt gtgtagtgt atggcattgt 16020  
acatttctgc acttggtaaa ttacagaag aggcaagtta tattttagag gattgagttt 16080  
attcaccag tcatatagtt gaagaggcaa gtaacctgta agagaggact gaacattaac 16140  
acctcttgtt cgattaaaaa tgaccaaaga gcatcaaaca tgtattcgag gctgttactt 16200  
tagatatggc ccattaatit gttagttgt ctatgtacat cctagttagt gtaaatgcca 16260  
gttaccattt ctatgatcta aaacaatcaa ctcttttagt atattttcaa aaacgaaaat 16320  
tcagtacaca tgtatgaatc ttaatatctt tctctagctc gttacaaaag caacaaaggc 16380  
accgtgtcag ctgggtcaca ttagctagtt tgtacttagc attatccact agcaccitat 16440  
tttcatgcat atcatgctaa ttgcttgcc cacgttaggt gggaattttt ttcatgtttt 16500

ataatttata tatgttttag acttctagtc cacaatttat gtacttcatg ttcctgagcc 16560  
tctagtatgg ctgatagcag actaggtgct gagtgcctgc cttttttgca gactgaagag 16620  
agaagaaata caagactgtc cattgttagt cagatttgta aaaatagact ctgatgtagt 16680  
ttacttttgc ccctatttta tttttaacaa tacaatatata taacagatcc taagaactta 16740  
tcttaattta ggagaagttg ctctgttcat taaattaaat tgtgaagtaa aaatgtgtgc 16800  
tcgagtctgt caatgcaatc ctgtgttctt gtttgaagat atgggttagg gcaggccagg 16860  
attgaacact gaatggtaaag actgcctctg ccttcagacg ttattgctaa attttttagct 16920  
acttgcagtt agtgcctgcca cgccgattaa gcagtagaac aaagtagttt tgtcgtgcac 16980  
aaatgagtta tatttcattg gaaatcgaag cgaaaacgaa tcaaaagtta gaagaaaagg 17040  
ggaaacttgg taattactcc ataaagagag tgcattttat tggtaagatg gtatccggaa 17100  
gctgtigagct ccgggctgta tgtattctgg caaatttgat atgagatgct cgattattgg 17160  
cttaagtttag cgatatcaaa ttgggggaag caccaaagga attattgtga aggagttatg 17220  
gggtgcgtgac gttatctgct aggttcaaat ccttgtggct atgaatatit atctgctagg 17280  
ttcaaatcct agtgactatg aatattaatg ggtaaggtaa gggatttatt gtttaatttta 17340  
gtttcttttaa gattgtgcca tcggacgcca ttcggttaact gtaataatgc ttgtatttgg 17400  
attcacttgt gttacatgca cgcactaaac atgtgcctta ccttttcatc tgtttttgctg 17460  
ttctgggcta gaaactcaaa cgttgaattt tccatggctt gctcaacttg acaattactg 17520  
cgtgtcaagc gatcttatac gcatactatg cgcacaagtg attgtatacg gatatgatga 17580  
cagtataacg tgtgatattg attttttttaa taaaaaatg atgttccctt ccttgatgaa 17640  
ggaacaaaga ctttttttaa aagaagggtta ttactaaaaa caaaaatgac aaaaacaaaa 17700  
tatcagtgca catggcaagt gtgctcggca attttttctc tgtactttta acaaaaatac 17760  
ttctatatgt tcttttttat aagggtggca caaatctttt aaatgagcca aatatctaca 17820  
ttggatttat taaaaactgt ataaattata atttatactc tgaaaggttg tgtgcatctc 17880  
tcttggagaa aatgtataag ttgcaaacia acattaatcc acgttatgta actttttttc 17940  
gccggaaagg ccgaaggagg cctgacggag cgtggggctc ctaccggga gaccgcgcag 18000  
gcccccttt gccggttcgg ccggggactc agggtgaaa tctaagctct ctgtatgttg 18060  
aaggttcgcg accgtcgaaa gagcataaga cacgggcgat gtatacaggt tcgggccgct 18120  
gagaagcgta ataccctact cctgtgtttt ggggggatct gtgtatgaag gagctacaaa 18180  
gtatgagcca gcctctccct tgttctgggt tccgaatctg gaaaagtcca gtccagtcct 18240

ccccctctaag tgggcaagg t cctccctttta tatcttaagg ggataccaca tgcaccatct 18300  
ccctccctttc tgtggggact taccctacct ttccataaat ggacggagat ttgtatagtt 18360  
gccgtccgaa tgacctctg ataggacggc ccataacctac ctccacttcc gccgaaagca 18420  
gggtgcgacgt gggattatgg ctgtctgtg acgacatgac cagtgtcaga ctggtcacaa 18480  
attgtctatt cctgtccacc acgcgtcagt ttagcaatct acatgttggc ccttcttcac 18540  
acaacatctt gcctgtaatg gtiaggatga agcctggcat atatctaacc aggactaacg 18600  
tgccatctct aggaggtaac acgctagctc cagctgggga cgagcgccta gaagccctcg 18660  
tcttgacggg atggggcgag gcgtgcgtca gatcgccgtg cgccacctaa cccgcgatct 18720  
gaccggctctg tgactggica cagaccggat aaacgagtc actgcacttc gttacatgcc 18780  
gcgtgacacg ctacagccaaa ccgcaataaa tgtggtagg tgagccccgc tgtgtcacc 18840  
taaccatac acgcggagca aaaaccacg aggggtcggg gcgcctcggc cctcggggcc 18900  
gaggcgggtg cggctcgacc cctcggggg gactaagagg agggcgaaca catcacctc 18960  
gggcccgcg tccccgagg gtgccaggcc acgtgggcga ttgtgtctgc ctcaaacctc 19020  
tagtcatgat actcctgatc ccattgtacc gacagtagcc cccggcgta tgccagggcg 19080  
atcgccctct ttaaggaag cggctcgggcg tgacgccact cctaaggcct ggtgacaggt 19140  
gggaccggtc tccacaattg ggcagaaacc caacggtcac aaatcacgca catcggaat 19200  
ggtaactcta ctatcaataa tgagcggctc ctccaagact gccacattac tcgagtagca 19260  
cacgaatctg gacatggcga ttctgttctg ctggagatgt ggtaacgtcg ctttggctcg 19320  
cgagcgtaat taacgcgcgc acgatatgat ctatctcgac tgccacaacc gcataaccac 19380  
ctcatgcgc gcaagcgggc gaatgggatt agtggaaagc tgggcgcgag aaacgagggg 19440  
gcgaaatagt gggcgcgaga agcgaggagc cgggcacagc gttggcaaga gtataaaggc 19500  
actgaggaaa ggatctgttt ccttcccttc gccatcattt cccttgtctt cgccgcctgc 19560  
gccctaactc ctcttttctt gtgtcttact ttccccacac gcgctcgctc tcaatcttct 19620  
cttccctccg cgccaatggc cggggctccg ctctgtctga tggtagcgtg ctgccgcctt 19680  
cccgcacgt gagcgagagg caggctgggc tgccgcgccg ctatcatgcc gaatctgcca 19740  
ccggccggga gatagtcacg ctgggtgagg gacgcccgc gccagactac ccggggcggt 19800  
ccgtcttctt tctccccctt gcaatggcag ggctgggttc gccattttct tctttcttca 19860  
tggaigtct gaagtcttac gatctccaga tggcgcacct ccccccaac gcggtgatga 19920  
cattggccat ctctgcgcac ctgtgcgaga tgttcattgg ggtgcgcca tctcttcggc 19980

tggtccggtg gttcttcacc gtgcagtcgg tgcgccgcc atcggtagtt ggtggctgct 20040  
acttcagcc atggggggccg gtgctgaatc gctacatccc ctgcgccctc cgcaagaagt 20100  
gggacgactg gaagagcgac tggttctaca cccccctcgc cgacgaagcg cgccctctgac 20160  
ttccgagcca gccccggcg caggccctcca gctggcgggc gccggtagat ctgggggatg 20220  
gctatgacgc cgtcctcgac cgctggcgg gcctacgac ccaggggctc acaggggcca 20280  
tggtgtacgg cgactacctc cgtcgtcggg ttgcgccgtt ccagcggcgc gctcggggcg 20340  
cctgggagta caccgggtcc gaagactaca tgaggaccca ccagggagtc agatgggact 20400  
gggctcctga ggatttcaag atagtgggtc aacgggtgct gaatctcaac tccatggagg 20460  
cgtccctcat tccccagga atcctccctc tctgcagcga tccagaccgc gcctccatcc 20520  
tgaccattat gacggcggtc ggggcctcag aggagtgagc tccaaagggc cagcagggcg 20580  
caggcgggag ccgtaggggg gatcaatcta ccccgggagg ggtcgtgct tctgggtctc 20640  
gcgacggagg cccgaggagc agccgcccig ccgacggccg ggggaagagg aagcagggag 20700  
gaacacctcc cccatctcct ccccgagggg gcggggcggt gcgtgccaac agcaggcgcc 20760  
cggagggggc cgccgggaca tgcagcccg agggggagcg caagaagaag cggctccgca 20820  
agatggggga gacagaacca tctcggggaa accttatttc ccttccaaag tggctgttta 20880  
accgaccccc tgcaggttc gtctctcacc catcgtggct gtattcattc tctcaacgcg 20940  
agttttcact caccatctt gtctgtcttc tggctttttc ttctgtttca gcgagatccc 21000  
gtcgcgtccc tcccgccatt ccaagtccgg ccagctctgag gccgaggatc cggcggccgc 21060  
agaggcccg aggcgggaat ctgaccggcg agaggcccg gatcgccctac gggaagccga 21120  
ggaggccgcc caggaggccg cccgggctcg ccagggcgag gaaaccgctc gggaggaggc 21180  
cgcccgggccc cgccaggccg aggaagccgc tcgggaggag gccgcccag cccaccaggc 21240  
cgaggaagcc gctcgggaga aagccggatt tcgccaggac gaggcaatgg cgacttccga 21300  
ggcagctcgc gatgaggtcg cgggcgcgtc gcttgagccc gcttccctcg gcgacgtca 21360  
ggcgacaact tccggggcag ctggcgacga ggctgcgggc gcgtcgcttg ggcccactcc 21420  
ctcaggcgac gcccaggacc aaccaggctt gagggacatc cccgagtcg gcacttccat 21480  
cggcggcccc agccgcgtgg catcctctcc aaggcggctc tccccacgc cttctatcgc 21540  
cccgtgagc gcagagcccc ttctgcaggc ctggccgcc gaaacatcg cgggtgttga 21600  
cgggcttagt gcccaggagg aggccctgca agcagagtg gcggagctcg acgccgcgtg 21660  
ggcgcgtgtc gaggaggggc ggcgtcagt ggaggccatg gtggaggagg gccgcaaggc 21720



acaccgccgg catgtctcgg agcttgaagc ccglaagaag gtgttggcgg aaatcgccaa 21780  
ggaagtggag gaggagcggg gggctgccct catlgccacc agcgtgatga acgaggcgca 21840  
ggacacccctc cgccttcaat acgggagctg ggaggcggag ctagggaana agctcgacgc 21900  
cgcccagggg gtgcttgacg ttgccgtgc ccgagaacag cgggcggggg agaccgaagc 21960  
ggcgctccga cggcgcgaag agacccttga ggcgcgcgcc atggcgctgg aagagcgcg 22020  
ctcgctcgtg gagagggatc tggcggaccg cgaggccgcc gtcactatcc gggaggcaac 22080  
actggcggcg cagcagctcg cctgtgccga agaggagtc gcactccgcc tccacgagga 22140  
cgcgctcacc gagcgggagc gagctctcga ggaggccgag gccgcggcg aacggctggc 22200  
ggacagcctg tccctccgcg aggcagcgca ggaggagcag gcgcgccgca ctctggaatg 22260  
tgtccgcgcc gagaggaccg cactaaacca gcgggcgcgt gacctcgagg cgcgggagaa 22320  
ggagctggac gcgagggcg gcagcggcg ggcggtctgc ggcgaaaacg acttagccgc 22380  
ccgctcgtc gtgccgaac ataccatcg cgatctgcag ggcacgcta actcgtccgc 22440  
cggggaggtc gaggccctcc gcttggcagg cgaggtaggg cccggcatgc ttgaggacgc 22500  
cgtctccgc ctagatcgcg ccggtcggca ggtgggctc tggagagggc ggaccgtaaa 22560  
gtacgccgcc aaccatggag gcctcgccca gcgcctctcg aagatggccg gggctctcca 22620  
acggctcccc gaggagctcg agaagacaat taagtcattc tcgagggacc tcgccaagg 22680  
agcgttggag ctctgtactg cgagttacca ggccagggac cccaatttct ctccatggat 22740  
ggcgctggat gagttccctc ctgggaccga ggacagcgcg cgcgcaggtc cgggatgccg 22800  
ccgaccatai cgtccacagc ttcgagggtc cagccctcgc gctcgcgttc gcccccaact 22860  
ccgacgagga ggacaatgcc ggtgggtgcag acgacagtga cgatgaggcc ggcgacccgg 22920  
gcgtatcgga ttgatcccc aagccccgc cattcttcag tttttcttc ttttcttct 22980  
tctaaggcct tcgggcctct tttttgtata gatcaactta atctgtaatc aaaaatgaag 23040  
aaatttttgt gtcaatttca tcttgcgtgt tgtatgagat gaggatgatc tgtgacgtgg 23100  
tctttttgcg tcttagcttg attaagggtc cgtgcccgagg tcccagtcct caaaaggcgt 23160  
gggtcggggc tagtgccctg ggagatccac atgtcgagac tggccaggcc gggaacgtgg 23220  
tgaccgaggg ttatgggtga ccgattgtg ggtttttgcc gattcccccc cggagttcac 23280  
cacgccccgg ggcacggctc ggttctgggc ccggttggc gatttttagcc gaccgagcc 23340  
cccgagggca ggattgagca cgagtacct atttcaagtc aagattcttc aaaaggaaaa 23400  
aaaacacag atacagcctt taggaaatg aaactgcttt tatigaaata ctgaaataag 23460

agaaataaga atgtgcatgt gggcagccc cggccaacc ctgcacgccc gagggggtgc 23520  
ggggttggcc cgagcccga acctgacacc cgaccccccc ctcaggggt agaagcgacg 23580  
aaggtgttcg atgttccacg ggttaggcag ctcaatgccg tcgcccgtgg ccagccgtat 23640  
ggagcccggc cgggggacgc cgaccactcg atacggaccc tcccacattg gtgagagctt 23700  
gctcaatcca gcacgcgttt ggacgcggcg taggacgagg tcgtcgacgc agagtgatcg 23760  
ggcccggacg tgacgctgat ggtagcgccg caggctctgc tggtagcgcg cggctctgag 23820  
ggccgcgcgt cgccttcgtt ctccaagta gtcgagggtca tctctcgaa gctgatcttg 23880  
atcagcctcg cagtacatgg tggcccgagg agacctcagg gtgagctcgg atgggagaac 23940  
cgcttccgcg ccgtagacga ggaagaaagg cgtttccccg gttgctcggc ttgggtgtagt 24000  
tcggtttgcc cagagcaccg ctggcaactc ctcgatccat gaatcgccgt gcttcttgag 24060  
tatgttgaag gctttggttt taaggccttt gaggatttct gaattggcgc gctccacttg 24120  
gccattgctt ctgggggtggg cagggtaggc gaagcagagc ttgatgccca tgtcttcgca 24180  
gtatcgccg aagagttcac tagtgaattg ggtgccatta tccgtaataa tacggttagg 24240  
cactccaaac cgggcccgtga tgcccttaat gaatttaagt gcggagtgct tatcgatctt 24300  
gacgaccgga taagcctcgg gccacttagt gaacttgtcg atcgcgacat acagatactc 24360  
aaacccgccc ggggcccgcc taaacggicc caggatatcg agccccaga cagcaaatgg 24420  
ccacgaaagt ggtatggtct gcagggccgt ggccggctga tggatttgct tggcgtggaa 24480  
ttgacacgtt ctacatcgcc ggaccaggct gaccgcatca ttgagagctg tcggccaata 24540  
gaaaccctgg cgaaaagctt taccaaccaa ggtgcgcgag gcggagtggg ctccgcattc 24600  
gccttcatgg atatcggcaa gaagcacaac gccttgttcc cgaggaatgc acttcaggag 24660  
gattccatta gccgcgcgcc gatagagggt ccttcttacc agcacgtagc gtttggagat 24720  
gcgatggacg cgttacttcc cttcgcggct ctcgggtaaa gctttaatctg tgaggtatgc 24780  
ttggatctcg gcaatccaag caatcaatct aaggagctg ggagcgctcc cctcgggtcc 24840  
cgaggcctgg acttcaacgg gccctggggg ccggtcaggc gcgtccgtct cccctaaggg 24900  
gtcgggtcgc gccgacggct gggcaagcct ttcttcaaag gcgcccgggt gggctctgggc 24960  
tcgctggac gcgagccgtg agagttcgtc ggcaatcatg ttatcccgtc tgggcacatg 25020  
ccgaagctca atcccgtcaa aatggcgctc catagccgt acttggcgca cgtaggcgct 25080  
catctgcggg tcagagcacc ggtacttctt acagacttgg ttaacgacca gctgggagtc 25140  
gcctaacacc aggaggcggc ggatccccag tccagctgcc actctgagtc cggcaaggag 25200

tccctcgtac tctgccatat tgttggctgc tcgaaagtcg aggcggacca agtalcgtag 25260  
gacgtctccg ctcgagagg tcaacgtgac cccgcaccg gcgcccigaa gagacaggga 25320  
gccgtcgaac tgcattaccc agtgggcggt gtgaggcagc tgcgaggggt ccgtgctggc 25380  
ctcggggatt gagacgggct cgggagccgg ggtccactct gccacaaaat cggcgagagc 25440  
ctggctcttg atagcgtggc gtgggtcaaa gtgcaaatcg aactcagaaa gttcgattgc 25500  
ccatttcacc acccgctctg taccgtctcg attatgcaag atttgaccga gggggtaaga 25560  
cgtaaccaca gtgacccgat gcgcctggaa ataatggcgc agtttccctc aggccatcag 25620  
aatagcgtaa agcatcttct gggcctgagg gtatcgggtt ttggcgctcc ggagggcctc 25680  
actaacaag tagacgggcc gctgcacctt tcgggtggggc cgatccctct cgctaggggc 25740  
cgcatccctg gggcactctt cgtccaagca gcctcgcggg gcgcacttgt ctctctgtgt 25800  
gatgacctcg gggtcggagg ataacagggg cggccttccc acagtggctt tggggccgtc 25860  
ctgggggtca ggggctcctg gcgtcgtcgg acaagcgggc aaagggccaa ctccggctgt 25920  
caggggcctt aggcctccgt tcggctcggg ggctcttct ccttgcctt tcccgggtcg 25980  
agtcagcaca gggtagcct cgggggtcaaa gggcgatagg tgcggccttc ccacagtggc 26040  
ctcagggcct tcttgggggt cgggggcttc tagcaccgtc tgacaagcgg gcagagggcc 26100  
aacctcggtc gtcgggggcc tcgggccacc gttcggctcg ggggcctctc ctccctgtc 26160  
tctcccgggc caagtcggca cagggtgggg aagcgcgaaa tgagaattgt cctcatcgcg 26220  
ctccacaacc aatgccgcac taactacttg cggggctgcc gctaagtaga gtagcaagg 26280  
ctcgtctggc tccggggcga ccagaactgg gggagagctt agatacgct tcaactgggt 26340  
gagggcattt tcagcttctt tcgtccaggt aaacggctcc gagcgtttga gaagcttaaa 26400  
taagggtaac gccttctct ccagcctcga tatgaaccga cttagggcgg ccattgcaacc 26460  
ggtagcgtat tgcacatccc taagtittgt gggggggcgc atccgctcta tagcccgat 26520  
cttctcgggg ttggcctcaa tgcgccgggc agagaccaag aacccgagaa gcttgcgccg 26580  
aggtaaccg aacacacact tatcgggggt taattttatg cgggcggagc ggagactctc 26640  
aaaagtittc gctagaicta tgagttaacgt ttcttgggtg cgcgtcttta caaccaagtc 26700  
atcgacataa gcttcaatat tacgtcttaa ttggctaccc aaagaaattc gtagtagtac 26760  
ttgaaaagta ggacctgcat tctttaacc gaagggcatt gtcgtataac aatagggttc 26820  
tatgggggta atgaacgcag tttttctc atcctcccta gccatgcgaa tctgatggta 26880  
accagagtat gcatttagaa aacacaaaag gtgcacccc gcagtggagt cgacaatctg 26940

aictatgcga ggcagggggt aaggatcctt aggacatgcc ttgttaaggt cgggtgtagtc 27000  
gatgcacatc cgaagcttgc cgttcgcctt gggaacgacc accgggttcg ctagccactc 27060  
ggcgggggttg acgctgccat cataattttc ggcgatggtg ggccggaacc ttggggggcca 27120  
acggacattc cgaagactcg ccacaaaggc tctacagccg acaccaccaa ccggggggcac 27180  
ggagggctga ttcccgctgc cgtgttgagg tgacactctg gacgaggaag cgccctccgt 27240  
tgcgtgggca gcacttcggt cattacgccg gcgctcgatg ctgggtgcggg cgtccggccc 27300  
cccacgcaga tcittcttggg tcgaaggagt cgacgaagga gtggcgggccg aatggcgaac 27360  
agcggctgcc gcctcgtctg ccttccgtct tgacgacgcg gagccggttg tagcagcacc 27420  
agaggccttg gtggcgagg accgcccacc agcatctagg cgctgccgta ccgtcatgac 27480  
taatttggcc acgtcgtcca gccatcgttg ggctggagac tccgggtcag ggacgacagg 27540  
cgggtgacgt aagagcgcgc ccgcagcttg gagcgcgccc tggggcgctgc tgccgtcgcc 27600  
gtagacgagg aggcgacgt ccccatctcg ccgttcttct ccatcgcccg cgatcgggtga 27660  
agtcgcggat ctltcgaccc tctcgagcgc ctccccccgc ttaggacitl ggctgtggagg 27720  
gagcgggtga gtacgagctc gacggcggtg gttcggctcc ccgtcgtcgc cactcacact 27780  
cggagagagg tcgtgcgcct ttgcttgctc ggccatcagg ctgaacagga aaagcttggc 27840  
gcacacggaa gactacgaga gctcagaaaa acacacactg agtccccctac ctggcgcgcc 27900  
agatgacgga gcgtggggct cctcaccggg agaccgcgca ggccccccctt tgccgggttcg 27960  
gccggggact cagggtgaaa ttctaagctc tctgtatgtg gaaggctcgc gaccgtcgaa 28020  
agagcataag acacggggcga tgtatlacagg ttcgggccgc tgagaagcgt aataccctac 28080  
tcttgtgtt ttggggggatc tgtgtatgaa ggagctacaa agtatgagcc agcctctccc 28140  
ttgttcttggg ttccgaatct ggaaaagtcc agtccagtc cccctctaa gtgggcaagg 28200  
tcttctttt atatcttaag gggataccac atgcaccatc tccctcttt ctgtggggac 28260  
ttaccctacc ttltcataaa tggacggaga ttgtatagt tgccgtccga atgacctct 28320  
gataggacgg ccataacct cctccacttc cgccgaaagc aggtgcgacg tgggattatg 28380  
gctgtctgt gacgacatga ccagtgtcag actggtcaca aattgctcat tctgtccac 28440  
cacgcgtcag tllagcaatc tacatgttgg ccttcttca cacaacatct tgccigtat 28500  
ggttaggatg aagcctggca tatacttaac caggactaac gtgccatctc taggaggtaa 28560  
cacgttagct ccagctgggg acgagcgctt agaagccctc gtccgtgacgg gatggggcga 28620  
ggcgtgcgtc agatcgccctg tcgccacctt acccgcgatc tgaccggctc gtgactggtc 28680

acagaccgga taaacgagtg cacigcactt cgttacatgc ggctgacac gctcagccaa 28740  
accgcaataa atgtggtttag gtgagccccg ctgtgctcac ctaaccata cagcgggagc 28800  
aaaaaccac gaggggtcgg ggcgccctcg ccttcggggc cgaggcgggt gcggtccgac 28860  
ccccctgggg ggactaagag gagggcgaac acatcacctt cgggccccgac gtcccccgag 28920  
ggtgccaggc cagtgggcg attgtgtctg cctcaaacct ctagtcatga tacttctgat 28980  
cccatgtcat cgacaaggcc atccgaatgt attaaggagt aaaagttaca agaaaaaaca 29040  
ccacaatgca ccaagggtgca tgaccacaca ccatacacta cccccaagca caaaccactg 29100  
agggtgaagc ctagcaccaa acgaccgcca ctaagtgtga ccaaacgccg ctaggcctac 29160  
ggcagcaaca catagatgag acttcgaaaa cgaigccacc aagggtgtca cgacatgtag 29220  
gatgtgcca tcgtccaict aaaaagatgt ggttttcacc cagagaaact catcaagaag 29280  
gggagagggt aaccttgac agcgccccaa ggaggttacg acgcccgaag gcgtagccgc 29340  
tgccggtccg gtgaaccacc ggactaggct tccgcctagg acctatagc ctltgatgca 29400  
gatcacctgc caccactcag aaccaccaca cagacaaaag gttagcacgt gcttccaccg 29460  
caccgcaccg acgccccctc gtcggccgac tccatcgaa caccatccct gagagctggc 29520  
ccaggacccc tccgttccac caccgcggcg ccgccttgcc agttttggcc aaaggagaac 29580  
ccgggactgg gtgacattgc ttccggcagc tgagcttccc ccgctggcga gctgtgtct 29640  
caatccaacc tagaaactcc ccgcaaaaga aggggatgag ctctaggaag ggcgagggtg 29700  
ccgaccggca acgaggaaga caaccatcg actccagctc cctttgcact accatctggg 29760  
cctgcgcaa tgccggatac gctgtcgtc cggctccggc gccaccacc tgcaccccc 29820  
ttgcctgggt tccgcgcccc tcttggctgc gtcgcgccgc ccagctggcc gctaagggca 29880  
ccacgacggc cgcccggcta ccgaggccct gccgcgccat gggacagctc gcgctggcac 29940  
cagcgagcca cgccgctcgc gctgttgccg gcgccagcga gcacaaccgc cagctccaag 30000  
ggccgagcat gccactgagc cgccgcccgt gccgcccggg ccggctgcac gtcaccggcg 30060  
cacacgaccg cagccgcca cgctccgctt ccgcgcccga ggcagcccca tgccattgcc 30120  
gcgcacctcg cccgcccgt gccgagccgc caccgcgcac ctgtctgagc cgccaccgcc 30180  
gtccctagcc gctcgttgcc gccgccacgc cagatccagg cgcgggatgg ccgcatccgg 30240  
ccttgggggg gccggatccg ccgctcccc acaccgccac ggcgtcacca cctccgaccg 30300  
cagtgagggc ttcgtcgttt gcccatacct catcgctcg aggaggaaga cgccaagaaa 30360  
aaagggcctc gccgtgctt tcttgtctcg ctgccggctt cgccgcccgc gagctccggc 30420

ggcggcgagg tgggggagaa gaagtgggga gtgggcagct agggtttttt cgccccccaa 30480  
gccgcccgtg cgagagcgac ggtggggggg gggggacttt ccaacctctt ccagtgttct 30540  
agttctccac gttatgtaac tcaatttggt taaccataga aagtaagaaa cctaccagcg 30600  
tgttaagctc tctttcattc cttttcttct tcttggtttt gcttccatca catgtcaagt 30660  
gaagggttct taactacat tactcctaca catctaattt tttctcaga tctttcgag 30720  
gtatatattg atgtacatt ttatgatctt aagataatct cttcacatt accctctgt 30780  
gaaacttiag ctigaaccgt calcttcacc acaattigag cccaatttgc acagagcaca 30840  
acgagcaata gcttgccctt acgttcatta tttagcatga actactacta actacccaag 30900  
aatcaataca ccggtttaat aacgccattt latcacgita atatagttt cattcaacac 30960  
accggttttg gcacagtigc aaacttgcaa taaattcttt cctacttctc catcccataa 31020  
tataacaaat tggtaigtct cgictggtae taagtigcta tattatgaga tggagggagc 31080  
acttcttttc ttccaaaata taagaatata gtattggatt agatattatc tagattcacg 31140  
aattcgatta ggttgictag atttatagtt gtaigtatg tataattcgg taataggita 31200  
ttacctctcg ggaatggagg agtagttttg actttttttt ttcttataaa tgcctttagt 31260  
ttttatatta gtcaaatitt atcgagtita actaagtita tagaaaaaaa ttagcaacat 31320  
ttaagcacca cactagtitt attaaattta gcatggaata tattttgata atatatitgt 31380  
tctgtgttaa aaatgctgct atatttttct ataaacgtag tcaaatitaa ataagttaga 31440  
ctaaaaaaaa tcaaacgac ttataatatg aaatggagga agtagtagac tataacaaat 31500  
ttaaaccttg ctttgatttt agagcatcac taatagtita gcaataatct atccctaaaa 31560  
tttatttttt ttcttaaaact gaaaatagga agtggaaata ctctccatc taagagagag 31620  
cttaaatitca ataaaaaact aaaaaactaa aggtggatcc ctctattaaa ctaccgcaa 31680  
aaatttatgt ttttttctc ttccacgcgc gcagaacaga tatctcgatc aagttagcat 31740  
gtaaaatttt taaagagata ctttatcga ctcttccgt atttccaaaa gcaaacggat 31800  
ttaaatctg actcaataa agatctatat atccaattta catgacacat gtttcgccga 31860  
atttttatat taataataat taatatittt aaaattaaat tattagcaat ttgtttggag 31920  
gatttatcaa aacaggatgg acgttggtta taacagcgtc tagacctaga cgcgctlgca 31980  
aactgcggcc acccttttat cacacaaatt ttigacaatt tgacacittc caaaaattaa 32040  
ttttataaat taaccgtgac caaaacttat ttaaaaataa tctttttgtt gagegcaaaa 32100  
tcgtatactt cagcgccaaa tagcacggcg ccgacctccc ctttccctc cctctatcc 32160

tccactgctg ccgcccacct ctccgtatca gctgcgtcgc gttgggttcc gccggcgctg 32220  
ctgctgctgc accagtccgc tagggcgggc gggcatggcg cgccgcgccc ctccccgct 32280  
ccgcgcccgc gctgttggcg ccttcgctc ggagggtcgc acccaagggc gagggggccg 32340  
cacggggggc agtggcgccc aggacgcacg ccacgtgttc gacgaattgc tccggcgtgg 32400  
caggggcgcc tcgatctacg gcttgaactg cgccctcgcc gacgtcgcgc gtcacagccc 32460  
cgcgcccgcc gtgtcccgt acaaccgcat ggcccagacc ggcgccgacg aggttaactcc 32520  
caacttgtgc acctacggca ttctcatcgg ttccgtcgtc tgcgcgggcc gcttggacct 32580  
cggtttcgcg gccttgggca atgtcattaa gaagggattt agagtggacg ccatcgccctt 32640  
cactcctctg ctcaagggcc tctgtgtcga caagaggacg agcgacgcaa tggacatagt 32700  
gtccgcgaga atgacccagc ttggctgcat accaaatgtc ttctcctaca atattcttct 32760  
caaggggctg tgtgatgaga acagaagcca agaagctctc gagctgctcc aaatgatgcc 32820  
tgatgatgga ggtgactgcc cactgatgt ggtgtcgtat accactgtca tcaatggctt 32880  
cttcaaggag ggggatctgg acaaagctta cggtacatac catgaaatgc tggaccgggg 32940  
gattttacca aatgttgtta cctacagctc tattattgct gcgttatgca aggctcaagc 33000  
tatggacaaa gccatggagg tacttaccag catgggttaag aatgggtgtca tgcctaattg 33060  
caggacgtat aatagtatcg tgcatgggta ttgctcttca gggcagccga aagaggctat 33120  
tggatttctc aaaaagatgc acagtgatgg tgtcgaacca gatgttgtta cttataactc 33180  
gctcatggat tatctttgca agaacggaag atgcacggaa gctagaaaga tgttcgattc 33240  
tatgaccaag aggggcctaa agcctgaaat tactacctat ggtaccctgc ttcaggggta 33300  
tgctaccaaa ggagcccttg ttgagatgca tggctctctg gatttgatgg tacgaaacgg 33360  
tateccacct aatcattatg ttttcagcat tctaatatgt gcatacgcta aacaagggaa 33420  
agtagatcag gcaatgcttg tgttcagcaa aatgaggcag caaggattga atccggatac 33480  
agtgacctat ggaacagtta taggcatact ttgcaagtca ggcagagtag aagatgctat 33540  
gcgttatitt gagcagatga tcgatgaaag actaagccct ggcaacattg ttataaactc 33600  
cctaaticat agtctctgta tctttgacaa atgggacaag gctaaagagt taattcttga 33660  
aatgttggat cgaggcatct gtctggacac tattttcttt aattcaataa ttgacagtca 33720  
ttgcaaagaa gggaggggta tagaatctga aaaactcttt gacctgatgg tacgtattgg 33780  
tgtgaagccc gatatcatta cgtacagtac tctcatcgat ggatatgtct tggcaggtaa 33840  
gatggatgaa gcaacgaagt tacttggcag catggcttca gttggaatga aacctgattg 33900

tgttacatat aatactttga ttaatggcta ctgtaaaatt agcaggatgg aagatgcgtt 33960  
agttcttttt agggagatgg agagcagtgg tgtagtcct gatattatta cgtataatat 34020  
aattctgcaa ggttttattc aaaccagaag aactgctgct gcaaaagaac tctatgtcgg 34080  
gattaccgaa agtggaaacg agcttgaact tagcacatac aacataatcc ttcattgggct 34140  
ttgcaaaaac aatctcactg acgaggcact tcgaatgttt cagaacctat gtttgacgga 34200  
tttacagctg gagactagga cttttaacat tatgattggt gcattgctta aagtggcgag 34260  
aaatgatgaa gccaaaggatt tgtttgcagc tctctcggct aacggtttag tgccagatgt 34320  
taggacctac agtttaatgg cagaaaatct tatagagcag gggttgctag aagaattgga 34380  
tgatctatit ctttcaatgg aggagaatgg ctgtactgcc aactcccga tgctaaattc 34440  
cattgttagg aaactgttac agaggggtga tataaccagg gctggcactt acctgttcat 34500  
gattgatgag aagcacttct cctcgaagc atccactgct tcttgtttt tagatctttt 34560  
gtctggggga aaatacaag aatacatag gttcttccct gaaaaatata agtcctttat 34620  
agaatctttg agctgctgaa gccttttgca gctttgaaat tctgtgttgg agttcttttc 34680  
tcttacagtt gtattagagg agggatcttc tctttatgtg taaatagcga ggtatgtatg 34740  
tcacctctcc gaattatitit tactctgggt cctagacggt aaacaagcaa ttatgttctg 34800  
cctttgatgc cagaaaaaac acaaaagttt gtcgttatct ctactaacgg atcataaagg 34860  
aatttgtaac tggagtttca aacttaattt gtctaggcag tagttttggc attagatcca 34920  
acattgtgia ggattcatit gtgtgtatca atctataggg ttccattaaa tticgttaat 34980  
gtgtactgtt taggtgttga atagtttgac ttgtttttta actgaacaaa agatactgaa 35040  
atcgttccat tcaacaaaca catgttccgt taatgaaatt atgttacgtt accttttgtt 35100  
ttcttactca caagtgtcct cttttcttat atcctataga ttggtacaac aaattattga 35160  
ttcaattttg gttttgaaca ttgatgatcc tccctgcact attggtgcag ctgctcttct 35220  
attcattttg tgaagtatg tgagtaccic tcaatcccat ctttatgctt ctgtgcatgc 35280  
ttcattccaa ttttttacgc atatcgattg ttttctttta tataacagtc cataaagata 35340  
atcacatcat gacaaagtta ttattttcia cagtatagtt atataagtat tcaccagttt 35400  
tccatgaata ttttggcatg tgattacaaa gaagattatt tgagaaaatc catgctttta 35460  
tttcatcttt ttgtttgaag ttgaacttta atttatgggt taaatttcag ttattattgc 35520  
tagcagctcg tactctttta tgggtataact tcaattgtgc ttattctcca atatctccct 35580  
tcttgttgtt caggttcaag aaaatcattt gtltgattca gaatctgggt tccattttct 35640



tcttaaatta ttaaatectc cagtgaatct tgttgattcc aaagcaccat cgatagggtc 35700  
caaacttctt ggaatcagta aagttcaaat gcttaatgga tcaaataagg attctgactg 35760  
catttcagag gaaatccitt caaaagtiga agagattctc ttaagctgtc aagtgatcaa 35820  
gtcgctcgac aaagatgaca agaaaacaac aaggccagaa ctgtgtccaa agtggcttgc 35880  
tttgttgaca atggaaaatg catgcttgtc tgcgtttica gtagagggtta agttttaatc 35940  
aaatttcttg gtcatgattt cccittatga ccattatatt tatttataatg agccaaataa 36000  
gcagttgtca acttgicata agttacatag cacctatttg caatattcat gggitggittg 36060  
cttagccctt ttcttcacct gcttttgatt gatgacttcc atctgtgttg cagaattgaa 36120  
ttggagtagt ggactgcact agaagcacct atggccattg tcatactagg aaggttttcc 36180  
cttatcaaat atttgattgt tacagagact tctgacacag tgtccagagt tggaggaaat 36240  
tttaaagaga catlaaggga gatgggaggt ctgatagta tttttgacgt tatggitggat 36300  
tttcattcaa catlggaggt gagatctgc taacatcgca tattttacat ttccittgtt 36360  
caactctaat ggattgtgca ggcttgttcc ttttcgccat tttagcttta atgtgcttga 36420  
agccacatga aagtaatgct tgtccagata catagccaaa ggttgttata ttttggggca 36480  
tggaaaatgc ttgaggtagt aactattttc atcaggacat ggaaaattgg ctgcaacaca 36540  
aattatgttg ttttatgttg caaaaatagt tttttaatac ttttttattc tgcattgtgt 36600  
gttagtattt tacagtacct ctgatgatta tatccccac galaataaca ctigaaacga 36660  
taataacact tgacatatct acaccaagtg aacattattc atttggatgt tacttttcca 36720  
gctatacttg ctgttcttgc atgtgtaagc aagtttggag taaattgcgc attaatltta 36780  
atgcttgggt ttccatcttg tgtacttttt attccccaac taataatgca atcatattac 36840  
gctgataaac tgaataaata aattaacaat atacttcttg tggcaaacct tgtgtatcag 36900  
aatctcataa aggatacatc cacttcagct ttggaccgaa atgaaggaa atctttgcaa 36960  
agtgcctgct tctctttgaa atgtttgaaa atattggaaa atgccatatt tctaagcgat 37020  
gataacaagg taatgctcct tataatgttct gtttcagttt agtaccattt tcttcttct 37080  
gtactatctt ctctccgat ttgttctgtg caaaatgtgc aaacagtgcg actttgtatg 37140  
tctgcitaa aattttcttt tcttcttgaa aaagcaatat gaactcttac attcattttg 37200  
cttcttgcag acccatttgc ttaataatgag tagaaaattg aaccgaaac gctccttgc 37260  
ttcttttgtt ggtgtcatta tcaatactat tgagttatta tcaggtattt ttcttaataa 37320  
tacaatgtgt tgcctaacac aataaaatgt tttaaacatc cagtaigtta aagttgcagt 37380

ctgacgccta ttttgitttg ctgcagctct ttcaatactt cagaattctt ctgttgittc 37440  
cagctctaca tatccgaaat cgtctaaagt ctctcaacag agttactctg glaataacaa 37500  
acaccaatit tgtttgatca gttgatctcg ttggcttttc tatgcactgt ctcaatatag 37560  
ttlggtcgcc attcaagctt cactacagat gttgaacttg gcctgacacc aaatatit 37620  
aaaatgctac ctgatatttt taatatitca tgtttcttga cccagattat cttgttgggt 37680  
cctcgtataa gtttaattag tgacattctt gaagctttgt tatgcagcag atgtcatggg 37740  
gggaacttca tttaatgatg gaaagagcaa gaactcgaaa aaaaaaaact tttgtcgaa 37800  
cagacacgtc attgttgcit atcttcaaaa tcagaagttt ctcatattac tatacttct 37860  
ggtagtgatg ctggctctgc acagaaggca ttcaattgtt ctccatttat atcaagcaat 37920  
ggggcatcaa gtggttcatt aggcgagagg cacagcaatg gtagtgggtt gaagtigaat 37980  
ataaaaaagg atcgtggcaa tgcaaatcca attagaggct caactggaig gatttcaata 38040  
agagcgcaca gtctgatgg gaactccaga gaaatggcaa aaagactccg tctatcttaa 38100  
aatgtaatca ccgacagtgg tgggtgggat gaccttttg catttgaccg ccgcgtcggc 38160  
gtcgcacca cgtaatcgcc cagtcgtctg ccccgctgc cagtcgtcg accgcgcacg 38220  
glaatcacac gcatctcgag gccgcgccta gctgatatct tctcatccgg ttgatttggt 38280  
atittggcgt ttttgcagtg gtgatggcgg ggggcgaccg tggccgaggc gtggagtgcc 38340  
atccgcatca gggigtatcg gccgcgtgc tccgccctgg tccgcaggct ttggcggcga 38400  
gctggcggcg gagggagact gtggtgagat cggatttcgc cgttggtggt gtcgtacca 38460  
tgggggattc gccgcaggcg ctctcagggt tgcagccctc tccactctct tccctttttt 38520  
atittttttt ctcgcaaaat gtgttgatg gttcgtctcg ctgggcaggc ctcatagcca 38580  
ttaatgtagt ttgctggaac atttacattt ggaacgttgt tggcaattgc ttgacaaaat 38640  
gtggaattgt ggaggggaga aaaatcattt gaacctgcag tgacaaaatt gccatctcta 38700  
atittaaaac tgaagggtgt gaaatcaaac ataatcatig ccagcgcac atcttgttta 38760  
accacatga tatattgttg gttataacag ttagctccac accaaccttg aagggtgcaa 38820  
tagaatgttt agtataaatt gaggagaaca ggcagttgtt aagactttct aaagaacttg 38880  
tagcagctaa tactagctat tgtgcatitg tgtttcatgg aatttgagca gcaatggata 38940  
tttcttacta agatgtatga tgcaaaacaa aaaactatgt ctatacagtt tacatglaat 39000  
gtgcggatgc aaataaaatc atgtacatgg acaactcat gggattcata ccgaattcca 39060  
gaattgcatt tcttatgttg ttacttttgt tgttgatttg gttaccagac atcgatgtga 39120

tttcaagggt cagaggggtt tgcttctacg cggtaggcgc agttgcagca atctttttgt 39180  
ttgtcgccat ggttgtgggt catccacttg tgctcctatt tgaccgatac cggaggagag 39240  
ttcaggaaaa aaatttgaaa ataccatit ttigaaaaag atttacgttt atatacacta 39300  
glatgaagaa tttagcaaaa tataactaat ccgcagatcg gttatgcggg agcgcaacaa 39360  
aagtatggcg tggcggcgcg gagtggacgg ccgaggcggt cgcgcggaat ggggctgcgg 39420  
gaccgagcca gtctcgcttg ccgtaacgc ggaaccggta cgctcccga gcgccagtgt 39480  
gcggaaccgc ggcgccaaca tttttttact gcatggcact gtgtttaata ctgtttgaca 39540  
ctgtttctgg tactgtttta cacagttccc gggtagctc cgacaaatgg aggcgcggca 39600  
ccgaccaatga acaatgtgtg aacagtgcct cacagggta aaacagtgt taaactgcgc 39660  
tgcacagtgc tggagtgcct ggccactgcg gtccgcggt ttggaaccgc gggaccgtcg 39720  
cgattccgcg ttltggagct gccggacat gacggttccg cgcaggatcg tcggttccgt 39780  
attttgaatc tgcggaaccg tcgctgtccc gcgtttccgt ttgcgggat gcgtatatit 39840  
ttataaaacc tctccatgca tgtatataaa cataaatat tgaaaaaata agtatatttg 39900  
caaatttttt tcgagagctc agcactacat tgcaaagatt tgggcaactc tgacaatttc 39960  
catgttctac aagcttgacg tcgagggat ggagaacctg ccaccgaata gtagccctgc 40020  
tatctatgtt gcgaaccatc agagtttttt ggatactat acccttctaa ctctaggaag 40080  
gtgtttcaag ttataagca agacaagtat atttatgttc cgaattatit gatgggcaat 40140  
gtatctctta ggagtaattc ctttgcggcg tatggacagc aggagccagc tggtaggtgt 40200  
gtagtctcat ccttgcttct ttaagtagac atataigcaa tiacagaatt tggtaaacia 40260  
acaagatttt atgaatcata tatgattttg gggaaaacac caaactctct ttggtggctg 40320  
ccttgaacat agttctatct acacagitat agcaccitct ttaaaatgaa gaactttgtt 40380  
gcatacacat atggccaaac cacataatga attttgttta ttctatctt tgaatgttag 40440  
caccttatit tcatgcatat catgctaatt tgcttgccca cgttagatgg gaattttttt 40500  
ccaatgttta taatttatat atgttctaga ctctagctc acaatttatc tacttcatgt 40560  
tcttgagcct ctagtatggc tggtagcaga ctagggtctg agtgcgtctc atttttgcag 40620  
actgaagaga ggagaaatc aggactgtcc gtgttagtc agatttgtaa aaatagactc 40680  
tgatgtagtt tattttagcc cctatitiat atttaacaat acaaatatat aacgtatcct 40740  
aagaactiat cgtaatttag gagaagtgc tcgtttcat aaattaaact gtgaagtaaa 40800  
aatgtgtgct cgagtctgtc aatgcaatcc tgtgttcttg ttggaagata tgggttaggg 40860

caggctagga tcgaacactg aatggtaaga ctgcttctgc cttcatttgt gcacttgggtg 40920  
ctgccacgcc gattaagcag tagaacaaag taattttgtc gtgcacaaat gagttatatt 40980  
tcattgaaaa tcgaagtga aatgaaccaa aagatagaag aaaaggggaa acttggtaat 41040  
tatatactcc acaaatttat tggtaagatt tgataattaga cgctcgatta cttggcctaa 41100  
gttaaggata tcaaatttgg ggaagcacca aaggaattat tgtgaaggag ttgtgggtgc 41160  
ataacgttat ctactaggtt caaatcctag tgactatgaa tattaatgag taaggtaagg 41220  
gatttattgt taattttagt ttctttaaga ttgtgtccgg gtacaccatt cggtaagtgt 41280  
aataatgttt tgtattggat tcacttgtgt tacgtgcatg tgatttacct ttccatttgt 41340  
ttctgcgttc tgggtatgaa ttgacgaga ttccatgggtc agctcaacat atcagttact 41400  
gcgtgtcaag cgaicttata tgggtatgcgc acaagcgatt gtatacggat atgacagtat 41460  
aacgtgtgat attgatacga tgttccttcc ctttataaag gaacaaagac ttttttaaaa 41520  
aaaagaaggg gtattactaa aaacaaaaat gtcaaaaaca aaataatcagt gcacatggca 41580  
agtgtgcacg agcaatagct tgccttaccg ttcatatttt agcatgtact actactaact 41640  
acgcaaaaaat caattcacccg attattaaac tgttaacatc attttagcac gttaacatat 41700  
gtttcattca acacaccggt tttaggcacat ttacaaactt gcaaagttgc aatactccct 41760  
tcgttacata gcataagaga ttttaggtga atgtgacaca tctatccaaa ttcatattac 41820  
tagaatgtat caccgcctcc acgccgggag ggagagcgcc gccggtggag aaagggggag 41880  
ggagtgggtcg aggggaacca gtaggggtgcc ctccccgtcg ccgcctcccc gtggccgcgc 41940  
cggcgagaca ggaggaagag ggggataatgg agcggcgccg ccggtgaggg cgcgcgcgcg 42000  
ggggggagcg gcgacgccgg tgaggaaggg aaggggagtg gtggctttga gagagatagg 42060  
ggggaggaaa aatgatttta gagttagggt ttgggctgct gagtttttat atagatcggg 42120  
atcaatcagg accgtccatc agatcggaca actacggcct ctccccggtt gggccgggtg 42180  
ccactcctag gttgccca caatttgggc acatgtacgc tccgcgtgaa ataagttcac 42240  
tttaggtcct ttaagttgcc tctgaattgt tcccaggccg gccgcactat tgggccaccc 42300  
cataggccat gtgtacgctc cgcacagaat aatttcgctt tagctccctt aatttgtccc 42360  
ctcaaactcc taaaaccagt gcaaatcttt aatttttagt tcacccatig caactcacgg 42420  
gcatatttgc tagtgacata taatatgaaa cgaaggatgt agcagactat agaattttaa 42480  
ctgtgccttc attttagagc atcactaact gttatttata tttttattta aataaatgct 42540  
gaaatgatgt ttttattatg aaaattagca ataaagctcc caaaatttca aaaaaaattt 42600

aaaagagatt tattaatcat ggtaatttta attaaaaatt aaatctaacc atatcatatt 42660  
atttcacggt ccgtgatgag gaaatggcag ctgctatcac ttacgggtggg agagaagggg 42720  
catigtittat ttttataact atctcttata acitcccatga aactataaaa taaatataat 42780  
cattatcata acattagttt tttttccatt gcaacgcaag ggtaattttt cagtacaata 42840  
aaaaaaataa aagtgggcca ttctgaacgg aaatttctgg ttttttttcc caagagcgcc 42900  
gcacacaact gcgcaagaga tcgatcgca tcacctgct cgtcgccgat ctctacacc 42960  
atccctgcca tctcttccc ctccactggc tgcctgca ccgtcagct agggcgggca 43020  
tggcgcgccc cgccgcttcc cgcgctgctg gcgcccttcg ctggaggggc tcgatccaag 43080  
ggcgaggggg ccgcgcgggg ggcagtggcg gtggcgcgga ggacgcacgc cactggttcg 43140  
acgaattgct ccgtcgtggc ataccagatg tcttctctta caatattctt ctcaacgggc 43200  
tgttgtatga gaacagaagc caagaagctc tcgagttact gcacataatg gctgatgatg 43260  
gaggtagctg cccacctgat gtgggtgctg acagcacctg catcaatggc ttcttcaagg 43320  
agggggatct ggacaaaatg ctgaccaga ggatttcgcc aaatgttgtg acctacaact 43380  
ctattattgc tgcgctatgc aaggctcaaa ctgtggacaa ggccatggag gtacttacca 43440  
ccatggttaa gagtgggtgc atgccigatt gcatgacata taatagtatt gtgcatgggt 43500  
tttgccttc agggcagccg aaagaggcta ttgtatttct caaaaagatg cgcagtgatg 43560  
gtgtcgaacc agatgttgtt acttataact cgctcatgga ttatctttgc aagaacggaa 43620  
gatgcacgga agcaagaaag atttttgatt ctatgaccaa gaggggcta aagcctgata 43680  
ttactacctt tggtaacctg ctccagggt atgtacctaa aggagccctt gttgagatgc 43740  
atggctcttt ggatttgatg gtacgaaacg gtatccacc taatcattat gttttcagca 43800  
ttctagtatg tgcatacgct aaacaagaga aagtagaaga ggcaatgctt gtattcagca 43860  
aaatgaggca gcaaggattg aatccgaatg cagtaccta tggaacagtt atagatgtac 43920  
tttgcaagtc aggtagagla gaagatgcta tgccttattt tgagcagatg atcgalgaag 43980  
gactaagacc tgacagcatt gtttataact ccctaattca tagtctctgt atctttgaca 44040  
aatggggagaa ggctgaagag ttatttcttg aaatgttgga tcgaggcatc tgtcttagca 44100  
ctattttctt taattcaata attgacagtc attgcaaaga agggagggtt atagaatctg 44160  
gaaaactctt tgactigatg gtacgaattg gtgtgaagcc cgataatcatt acccttggca 44220  
ggtaagaagg atgaagcaat gaagttactt tctggcatgg tctcagttgg gttgaaacct 44280  
aatactgita ctatagcac ttigattaat ggctactgca aaattagtag gatggaagac 44340

gcgttagttc tttttaagga gatggagagc agtggigtta gtccctgatat tattacgtat 44400  
aacataattc tgcaaggttt atttcaaacc agaagaactg ctgctgcaaa agaactctat 44460  
gtcaggattta ccgaaagtgg aatgcagatt gaactttgtt agattttaatt ggataattaa 44520  
tccattttaa tcaattaaat caaataaatt ccaaggctca ttaigctagg aattcatgtg 44580  
aattcattct tctatgggat atcaatggga tgaagagttt tgagaattaa tccatttgat 44640  
taaggaattg gtaacttata tcaattaatc ctaattgatg gatggttgat ggttgtgtag 44700  
tggaggatgg ttcatggcta gttgatgaca attagttgct ctattcctct tccatttcca 44760  
ttggttaactt acatcaatta ctcttaattg attgttgggt gatggttgtg tagtggagga 44820  
tggttcatgg ctagttgatg acaattagtt gctccattcc tcttccattt ccatgactct 44880  
tactcttcat ctccattcc tcttataaaa tgagaatgga ttgatctcc cgcgagaaga 44940  
agaagacaca ctctcatcca ttttcaaaag ctgttgctgc tacggtaatc ccatcccgac 45000  
gagtgtgtgc acacgcgttg ggagagtagg cctccgaaac caccgcgttg tgcgacgtt 45060  
gcacagacgg gcgggcgac aggttttttg ggagcgcaag gcgcgactac tcactgttcg 45120  
tcaacatcta ctctatctt accaacaatgt cgaacactgg agacaaggag aaggagactc 45180  
ccgtcaacac caacggaggc aatactgctt caaactccag cggaggacca ttcttgggg 45240  
ataaccttat tacattatit caattagaag ttttactgtt aatgttcatc gcaatgtcaa 45300  
catttgttca ttaatgtatt gttgatgctt attcaacgtt aagcatgctc atgttgatta 45360  
cattcaccac tatcactgga tcaaatccta ttgtaaatat catgtttatt atcttgttat 45420  
tttggattaa aatatgccga attatgacca aatttccaac aaacttagca catacaacat 45480  
aatccitcat ggactttgca aaaacaaact cactgatgat gcacttcgaa tgtttcagaa 45540  
cctatgtttg atggatttga agcttgaggc taggacttcc aacattatga ttgatgcatt 45600  
gcttaaagtt ggcagaaatg atgaagccaa ggatttgttt gttgctttct cgtctaacgg 45660  
tttagtgccg aattattgga cgtacagatt gatggctgaa aatattatag gacaggggtt 45720  
gctagaagaa ttggatcaac tctttcttcc aatggaggac aatggctgta ctgttgactc 45780  
tggcatgcta aatttcattg ttaggggaact gttgcagaga ggtgagataa ccagggctgg 45840  
cacttacctt tccatgattg atgagaagca cttttccctc gaagcatcca ctgcttccct 45900  
gtttatagat ctttgtcttg ggggaaaata tcaagaatat cataatattc tccctgaaaa 45960  
atacaagtcc tttatagaat ctttgagctg ctgaagcatt ttgcagcttt gaaattctgt 46020  
gttggaaatt ttttctccta cagtcagatt agaggaggga tcttctctgt atgtgtaaat 46080

agcgaggiat gtaatgicacc tctccgaatt attttgactg tggttccctgg actgtaaaca 46140  
agctattatc ttctggigtg gatgccagaa aaaacacaaa agtttgtcgt tatctctact 46200  
aacggatcat aaagggggtt gtaactggag tticaaactt aaggtaicta ggcagtaggt 46260  
atatattgat cctacatctt atgatcttaa gatgataacc ttctcattat cctctgctga 46320  
aactttagct tgaaccgica tctacaccac aatttgagcc ccttagcaca gagcacaacg 46380  
agcaatagct tgcctttagc ttcatatttt agcatgcact actactaact acccaataat 46440  
caatacatcg gttattaaac tgtttgtaca gtttaataat gtcattttat cacgttaaca 46500  
tatgtttcat tcaacaccac accggttttg gcacagtgc aaacttgcaa taacatittt 46560  
actacttcic cgccccataa tataacaatc tctgtccata ctatatlgct atattacggg 46620  
acggatgaag tacttctttc ctcccaaat alaagaatct agtcctagat tagatattat 46680  
ttggattcac gaatttgatt aggctatcta gatttgtagt cgtatgtaat gictaattcg 46740  
gtaatagggt attacctctt tggatggagg gagtagtttt tatttcgtac tccctctgtt 46800  
tcataattata agttgttttg acttttttct tagtcaaatt ttattgagtt tgactaaatt 46860  
tatagaaaaa aaattagcaa catttaagca ccacattagt ttcatlaaat gtagcatgga 46920  
atatattttt ataatatgtt tgttttttta ttaaaatgct actatatitt tctataaatg 46980  
tagccaaatt taaagaagtt tgattacgaa aaaaaatcaa aatgacatat aatatgaaac 47040  
tgaggatgta gcagactata gcaaatitaa actatgcitt tatttttagag catcaccaaa 47100  
agagatagcc taaatcttat cttaactaat taaaatatcc ataattttcc ttctgtcaca 47160  
ttaaatittc gtccgtlaaat ccgattgaaa tccaactaga caatccaaaa aatagagaaa 47220  
aagaacagaa aaaataataa aaagcacaca aatcttatct caatcccgcg ggaagctgcc 47280  
gatgccgccg aatccgctcg agcgccgccg ccgccgtca cggggaacga tgtcgtctgt 47340  
atcgcacgtg gtaatgggagg gcgccgccgc cgctgcttgg gagataggat atggagagag 47400  
aaggaaatgt gagggagggt taggtttttc cccattcgta tcttcagcga cacggaggcg 47460  
atccaagctg tccatcagat cagacggctc agaacgcctc catcttcagg ccgcgcattc 47520  
ttgatgggcc gagggaaggc cggagggtcg aacaaacgta gtcagaggag gatttggagg 47580  
aggtaaagta gaatttatit gcgggctgag atagttaaag gactgaaaat ggcccataga 47640  
gaaattggga attttatitaa aataaatgtt gaaaagggtt ttatatattc aaaattagaa 47700  
attaagctcc gaaaatttta aaaaatatcc aaagagcatt attaatcatg attaatitaa 47760  
taaaaattaa atccaacat atcatattat ttacggcgcc gcagtaggaa aatgcgcagc 47820

tgttgtcgt tacggtggga gagaaggac attgtttatt ttcagaacta tcttttataa 47880  
ctcccatgga actttaaaat aaatataatc attattatag cattagtttt tttctgtctt 47940  
ttttttcccc aagagcgccg cgcagaagag atcgatcgcg atctccctgc cccgacgtcg 48000  
ccggccgatc tctcattctc tccacgccct gctcgtcgcc gatctcctac accatccctg 48060  
ccatctctc ctccccctc cctctatcct ccactgggtgc cgcccaccctc tccgtataag 48120  
acaaactgcg ttgcggcggtt gggtttccgcc ggcgctgctg ctgcaccgtg cagctagggc 48180  
gggcatggcg cgccgcgccc cttcccgcgc tgttggcgcc cttcgctcgg acggctcgat 48240  
ccaagggcga ggaggccgcg cggggggcag tggcgccgag gacgcacgcc acgtgttcga 48300  
cgaattgctc cggcgtggca ggggcgcctc gatctacggc tgaaccgcg cctcgcgga 48360  
cgtcgcgctg cacagccccg cggccgccgt gtcccgtac aaccgcatgg ccgagctgg 48420  
cgccgacgag gtaactcccg acttgtgcac ctacggcatt ctcatcggtt gctgctgccc 48480  
cgcgggccgc ttggacctcg gtttcgcggc cttgggcaat gtcattaaga agggatttag 48540  
agtgggaagcc atcaccttca ctctctgct caagggcctc tgtcccgaca agaggacgag 48600  
cgacgcaatg gacatagtc tccgcagaat gaccgagctc ggttgcatac caaatgtctt 48660  
ctctacaat aatcttctca acgggctgtg tgatgagaac agaagccaag aagctctcga 48720  
gttgctgcac atgatggctg atgatcgagg aggaggttagc ccacctgag ttgtgtcgta 48780  
taccactgtc atcaatggct tcttcaaaga gggggattca gacaaagctt acagtacata 48840  
ccatgaaatg ctggaccggg ggattttacc tgatgtttgt acctacagct ctattattgc 48900  
tgcgttatgc aagggtcaag ctatggacaa gccatggagg tacttaccac gatggttaag 48960  
aatgggtgtc tgcctgattg catgacatat aatagttatt tcttgaaatg ttggatcgag 49020  
gcatttgtct ggacactatt ttcctttaatt caataatga cagtcatgc aaagaaggga 49080  
gggttataga atctgaaaaa ctctttgacc tgatgggtacg tattgggtgt aagccgtata 49140  
tcattacata cagtlacactc atcgatggat attgcttggc aggtlaagat gatgaagcaa 49200  
tgaagttaact ttcctggcatg gctctcagtt ggltgaaacc taatactgtt acttatagca 49260  
ctttgattaa tggctactgc aaaattagta ggatggaaga cgcgttagtt cttttlaagg 49320  
agatggagag cagtggigtg agtccgtata ttattacgta taacataatt ctgcaagggt 49380  
tatttcaaac cagaagaact gctgctgcaa aagaactcta tgtcaggatt accgaaagt 49440  
gaacgcagat tgaacttagc acatacaaca taatccttca tggactttgc aaaaacaaac 49500  
tcactgatga tgcacttcag algtttcaga acctatgttt gatggatttg aagcttagag 49560



ctaggacttt caacattatg attgatgcat tgcctaaagt tggcagaaat gatgaagcca 49620  
aggatttggt tgttgctttc tcgtctaacg gtttagtgcc gaattattgg acgtacaggt 49680  
tgatggctga aaatattata ggacaggggt tgcctagaaga attggatcaa ctctttcttt 49740  
caatggagga caatggctgt actgttgact ctggcatgct aaatttcatt gttaggggaac 49800  
tgttgcagag aggtgagata accagggctg gcacttacct ttccatgatt gatgagaagc 49860  
acttttccct cgaagcatcc actgcttccct tgtttataga tcttttgtct ggggggaaaat 49920  
atcaagaata ttatagggtt ctccctgaaa aatacaagtc ctttatagaa tctttgagct 49980  
gctgaagcat ttgacagctt tgaattctg tgttgggaatt cttttctcct acagtcctat 50040  
tagaggaggg atcttctctg tatgtgtaaa tagcgaggta tgtatgccac ctctccgaat 50100  
tatttttact gtggttccta gactgtaaac aagcaattat gttatgctgt tgatgccaga 50160  
aaaaacataa aagtttgtcg ttatctctac taacggatca taaagggatt tgtgactgga 50220  
gtttcaaact taatgtgtct aggcagtaat ttgacatta gatccaaaac aatttatagg 50280  
gtttcattaa atttcatcta tgtgtactgt ttaggtgttg aatagtgtga ctgttttttt 50340  
aactgaacaa aagatatgtc tgaagcttgg ttctttacca aatgcagtac tgatcatcac 50400  
aatataatit ttatggaaca agattggatt gtatagaatg gtttccgac tgattatctt 50460  
atctcaacgt attattatgc acatgtacta atcatgaaat atctgatgga atgatgtttc 50520  
tattttacct tgtgaggcag caaggagtga gatggataac accacatact cctctatcc 50580  
cagaatataa gaagtttttag agttggacac gattattaag aaagtaggta gaagttagta 50640  
gtggaggggt gtgattgcat gagtgtgga ggtaggtggg aaaagtgaat ggtggaggggt 50700  
tgtgattggt tgggaagaga atgttggtag agaagtgtt atattttggg gagtacatta 50760  
ttattctaga acaatactgt tgtgtcaag aagcgttcca aagatgtttc acaacctgtg 50820  
ctcgaatgggt tttagactta atcctgggac attcagatc atgatctgtc tcatctttaa 50880  
acatggaata aaggatgaca gcatgatctt ttgtctctta taatcttttg gctaccacaca 50940  
gataatagct glaaatctat actactttta aaggagtagt ggtggtggtg agtggtgaat 51000  
ctgccaccac cccaccacca actctcaaaa ttctgacatg tgggatcact gtcaatccct 51060  
tctccaagac atgtgggac actgtcaatc cttcttccaa accaattgta tgatagaaca 51120  
gtggaaatca cggacagacc atggagctct caaccataat catccttgcg agttaataac 51180  
aaatggagcg taaacttggc aagcaaaaaa ctcaaattaa ttctaaaatt aagctctagg 51240  
attcaaaata gatttccct ctgcattgtg ctgttatgat ttttaattcc gtaacaacgc 51300

aaatgcattt tgctagtcct ataaagaagg gttaatgcaa atattctgat taaatgattg 51360  
tatctatgaa gtltgaatgc tagtggaagc tcctttgacc atgttttggt gtgcgagcat 51420  
ttaagagagt gaagagaatg ctcttttggg gcgtttctgg tatggaagga tccacagata 51480  
aaattcaggt tctactgctt ctctgcttgt aattttcatg aagctgcagt gaataacctg 51540  
ttgaccactt gatctgttgc ttggaaggag aatatagtag tggccaaggt tggtagcggg 51600  
gatggtggca tgtgatcccc cagatcttca gtgaccaga gaggagggga cggcgctgg 51660  
tgagctacaa ggcatactca gtggagggca agatcaaggc ctcccgtccg taggggactc 51720  
cgctgcatca aggccaactg ctccgaactg atcaatttct ggtacggatc acttctcctt 51780  
tccttttttt ttaccctta agcactctct tgattcttgc ctgtacctc ctttaatttc 51840  
tttcaatata ttgtggcact tgatcatggc ggagaccac ctccagigt gaatggattt 51900  
tgtcaaagaa cttaaattat tccattagct tatttctga ttacatggaa gacattcttt 51960  
tctggaataa atacagaact aaatcctgtt tctgaataa aagtgttag tgtgtggcat 52020  
ggtgcatttc cgcgcttcta aattttataa aacctgttca ttcaattga acctgcatcc 52080  
aatccaatat tttaggtgca gacaggtgct tgcggtcagg ttaaagaagt tggcaaaaat 52140  
gcttctgaag aaaggtaat tgttgttca tctcaggagg taataigcag atgattattc 52200  
caattggcat tgccttgcca tttttatcac gagtctttac aattttatat cctcctacat 52260  
attctttcca gattccagat gatccaggtt ctccaacaat tgaggcgctt atttgcctcc 52320  
atagtaaagc aagtacactt gctgagaacc accagtgac aacacggctt gttgtacct 52380  
caaacaaagt tggttgtatt ctgggggaag gtggaaaggt aattactgaa atgagaagac 52440  
ggactggggc tgaatccga gtctactcaa aagcagataa acctaaagtac ctgtcttttg 52500  
atgaggagct tgtgcaggta atttatitgg ccataacctac accagagatc catatattac 52560  
ttttataact gcagttttta ctgtttaaca ttctattgtg cttttacatt tgttccaagc 52620  
tttcagggtg ctgggcttcc agctattgaa agaggagccc tgacagagat tgcctcgagg 52680  
ctttgaacta ggacactcag agatggaagt tcttccaata atccgacacc ttttgcccc 52740  
gttgatgggc ctctgttga tatcttgcc tacaaggaat tcatgctata tggacgatct 52800  
gctaatagtc ccccatatgg agggcctgct aatgatccac catatggaag acctgccatt 52860  
gatccacat atggaagacc aatatccaca atatggaaga cctgccaatg atccaccata 52920  
tagaagacct gtcaatgata catcataitg agggttggac aatgatgggc ctctgtatca 52980  
ggcccgttcc tgaggggggt cgaatggggc gatcgctccg ggccccgat tcccagggcc 53040

```

cccacctatc tgtgcaacga gtagtagcga tcttccagcg cgcaacgtga ggcgatgttt 53100
ctccgtgatt tcgccggcct gcaactgcga gatcgcgagt ataacgatca gccgatcgat 53160
ctcatctgcc gactgccatg ctgatgccac acgcaagcgc agcatatcag ctttatcttg 53220
gttgatcggc atgctggacg agcacatctg ttgtcgcatc aactgctgac tgctatatai 53280
gtgctggigc tgaatcgatc gattgtcgtc gcggaagiga agaacaacca cggcacigct 53340
gcctgctggg ctctagccgc catcagtaag tacgtatata tgcctatcia gatctagatc 53400
gagattacat agtggaaatta tctgtttata aaaaaattac aaggtaatcaa ttgataattt 53460
aaggttataa ccgtacaaac ttcagtgatt tgctggtttc acattgggtta gatttgtttc 53520
aactaatttg gtacttctgt agccttgtaa ttacgaatc tagtattaat attttcttaa 53580
gtattagcct gtaccttgat attatgctgt tgagaaagta tgcaatagat aacaaaaaca 53640
agtaggtgtg ttgaggatgc tcaagagtaa tacagccact tcaataattc tgatattatc 53700
aggacatcat caataattct gcgcctacaa atcttcaaag aaaattttaa tataatgcgt 53760
atgatttttt aaatacgaat attgattgct atttaaagat atttatatta tatggtaatt 53820
attatttgaa ggttttataat aaaggccctc gtttttagtt tcacgctggg ctttcagaat 53880
ctcaggaccg gccctgcica tgaic                                     53905

```

<210> 29

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 29

atcaggagcc ttcaaattgg gaac 24

<210> 30

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 30

ctcgcaaatt gcttaatttt gacc 24

<210> 31

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 31

tgaaggagtt atgggtgcgt gacg 24

<210> 32

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 32

ttgccgagca cacttgccat gtgc 24

<210> 33

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 33

gcgacgcaat ggacatagtg ctcc 24

<210> 34

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 34

ttacctgcca agcaatatcc atcg 24

<210> 35

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 35

aaggcatact cagtgagggg caag 24

<210> 36

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 36

ttaacctgac cgcaagcacc tgtc 24

<210> 37  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 37  
tggatggact atgtggggtc agtc 24

<210> 38  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 38  
agtggaagtg gagagagtag ggag 24

<210> 39  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 39  
ccctccaaca cataaatggt tgag 24

<210> 40

<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 40  
tttctgccag gaaactgtta gatg 24

<210> 41  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 41  
gcgatcttat acgcatacta tgcg 24

<210> 42  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 42  
aaagtctttg ttccttcacc aagg 24

<210> 43  
<211> 26  
<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 43

gaggatttat caaaacagga tggacg 26

<210> 44

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 44

tgggcggcag cagtggagga taga 24

<210> 45

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 45

aagaagggag ggttatagaa tctg 24

<210> 46

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>



<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 46

atatcaggac taacaccact gctc 24

<210> 47

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 47

acgagtagta gcgatcttcc agcg 24

<210> 48

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 48

cagcgtgaaa ctaaaaacgg aggc 24

<210> 49

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 49

atccccacatc atcataatcc gacc 24

<210> 50

<211> 25

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 50

agcttctccc ttggatacgg tggcg 25

<210> 51

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 51

atttgttggg tagttgcggc tgag 24

<210> 52

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 52

gccccaaactc aaaaggagag aacc 24

<210> 53  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 53  
cctcaagtct cccctaaagc cact 24

<210> 54  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 54  
gctctactgc tgataaaccg tgag 24

<210> 55  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 55  
tggatggact atgtggggtc agtc 24

<210> 56  
<211> 24

<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 56  
agtggaagtg gagagagtag ggag 24

<210> 57  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 57  
tacgacgccca ttctactcca ttgc 24

<210> 58  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 58  
catttctcta tgggcgttgc tctg 24

<210> 59  
<211> 26  
<212> DNA  
<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 59

acctgtagggt atggcacctt caacac 26

<210> 60

<211> 26

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 60

ccaaggaacg aagttcaaat gtagg 26

<210> 61

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 61

tgatgtgttt gggcatccct ttcg 24

<210> 62

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 62

gagatagggg acgacagaca cgac 24

<210> 63

<211> 26

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 63

tcctatggct gtttagaaac tgcaca 26

<210> 64

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 64

caagttcaaa cataactggc gttg 24

<210> 65

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 65

cactgtcctg taagtgtgct gtgc 24

<210> 66  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 66  
caagcgtgtg ataaaatgtg acgc 24

<210> 67  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 67  
tgcctactgc cattactatg tgac 24

<210> 68  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 68  
acatactacc gtaaattggc tctg 24

<210> 69

<211> 4820

<212> DNA

<213> rice

<400> 69

atcgatcgcg atctccctgc cccgacgtcg cgggccgacg tctcattctc tccacgccct 60  
gctcgtcgcc gatctcctac accatccctg ccattctctc ctccccctcc cctctatcct 120  
ccactgggtgc cgcccaccctc tccgtataag acaaactgcg ttgcggcggtt ggtttccgcc 180  
ggcgctgctg ctgcacctgt cagctagggc gggcattggcg cgccgcgccc ctccccgcgc 240  
tgttggcgcc cttcgctcgg acggctcgat ccaagggcga ggaggccgcg cggggggcag 300  
tggcgccgag gacgcacgcc acgigtctga cgaattgctc cgccgtggca ggggcgcctc 360  
gatctacggc ttgaaccgcg ccttcgccga cgtcgcgcgt gacagccccg cggccgcctg 420  
gtcccgctac aaccgcatgg cccgagccgg cgccgacgag gtaactcccc atttgcac 480  
ctacggcatt ctcatcggtt gctgctgccg cgcgggccgc ttggacctcg gtttcgcggc 540  
cttgggcaat gtcattaaga agggatttag agtggacgcc atgccttca ctctctgct 600  
caagggcctc tgtgccgaca agaggacgag cgacgcaatg gacatagtgc tccgcagaat 660  
gaccgagctc ggctgcatac caaatgtctt ctcttacaat attcttctca aggggctgtg 720  
tgatgagaac agaagccaag aagcctcga gctgctgcac atgatggctg atgatcgagg 780  
aggaggttagc ccaccigatg tgggtgtcgt taccactgtc atcaatggct tcttcaaaga 840  
gggggattca gacaaagctt acagtacata ccatgaaatg ctggaccggg ggattttacc 900  
tgatgtttgt acctacaact ctattattgc tgcgttatgc aaggctcaag ctatggacaa 960  
agccatggag gtacttaaca ccatggttaa gaatgggtgc atgcctgatt gcatgacata 1020  
taatagtatt ctgcatggat attgctcttc agggcagccg aaagaggcta ttggatttct 1080  
caaaaagatg cgcagtgatg gtgtcgaacc agatgttgtt acttatagct tgcicatgga 1140  
ttatctttgc aagaacggaa gatgcatgga agctagaaag attttcgatt ctatgaccaa 1200  
gaggggccta aagccigaaa ttactacctt tggtagccctg cttcaggggt atgctaccaa 1260  
aggagccctt gttgagatgc atggctctct ggatttgaat gtacgaaacg gtatccacc 1320  
tgatcattat gttttcagca ttctaataatg tgcatacgct aaacaaggga aagtagatca 1380  
ggcaatgctt ggtttcagca aaatgaggca gcaaggattg aatccgaatg cagtgcgta 1440



tggagcagtt ataggcatac ttigcaagtc aggcagagta gaagatgcta tgcittatit 1500  
tgagcagatg atcgatgaag gactaagccc tggcaacatt gtttataact ccciaattca 1560  
tggtttgtgc accigtiaaca aatgggagag ggctgaagag ttaatticttg aaatgttggg 1620  
tcgaggcatc tgtctgaaca ctatttictt taattcaata attgacagtc attgcaaaga 1680  
agggaggggtt atagaatctg aaaaactictt tgagctgatg gtacgtattg gtgtgaagcc 1740  
caatgtcatt acctacaata ctcttatcaa tggatattgc ttggcaggta agatggatga 1800  
agcaatgaag ttactttctg gcatggcttc agttgggttg aaacctataa ctgttactta 1860  
tagcactttg attaatggct actgcaaaaat tagtaggatg gaagacgcgt tagttctitt 1920  
taaggagatg gagagcagtg gtgttagtcc tgatattatt acgtataaca taattctgca 1980  
aggtttatit caaaccagaa gaactgctgc tgcaaaaagaa ctctatgta ggattaccga 2040  
aagtggaaacg cagattgaac ttagcacata caacataatc ctcatggac ttigcaaaaa 2100  
caaactcact gatgatgcac ttcagatgtt tcagaacctt tgtttgatgg atttgaagct 2160  
tgaggctagg actttcaaca ttatgatga tgcatgtctt aaagtggca gaaatgatga 2220  
agccaaggat ttgtttgttg ctttctcgtc taacggttta gtgccgaatt attggacgta 2280  
caggttgatg gctgaaaata ttataggaca ggggttgcta gaagaattgg atcaactctt 2340  
tctttcaatg gaggacaatg gctgtactgt tgactctggc atgctaaatt tcatgttag 2400  
ggaactgttg cagagaggtg agataaccag ggctggcact taccittcca tgatgatga 2460  
gaagcacitt tccctcgaag catccactgc ttccittgtt atagatcttt tgtctggggg 2520  
aaaatatcaa gaatattata ggtttctccc tgaaaaaac aagtccttta tagaatcttt 2580  
gagctgctga agcattttgc agctttgaaa ttctgtgttg gaattcttt ctcctacagt 2640  
cctattagag gagggatctt ctctgtatgt gtaaatagcg agtttgaatg ctagtggag 2700  
ctcctttgac catgttttgt tgtgcgagca tttaagagag tgaagagaat gcttctttgg 2760  
tgctgttctg gtatggaagg atccacagat aaaattcagt agtggccaag gttggtgacg 2820  
gtgatgggtg catgtgatcc ccagatctt cagtgacca gagaggagg gacggcgcgt 2880  
ggtagactac aaggcatact cagtggagg caagatcaag gcctccgct cgtaggggac 2940  
tccgctgcat caaggccaac tgcctcgaac tgatcaattt ctggcgcaga caggctgtt 3000  
cggctcaggtt aaagaagttg gcaaaaatgc ttctgaagaa aggttaattg ttgtttcatc 3060  
tcaggagatt ccagatgatc cagtgctcct aacaattgag gcgcttattt tgcctcatag 3120  
taaagtaagt acacttgctg agaaccacca gttgacaaca cggcttgttg taccatcaaa 3180

caaagtiggt tgtattcttg gggaaggtgg aaaggttaatt actgaaatga gaagacggac 3240  
tggggctgaa atccgagctt actcaaaagc agataaacct aagtaacctgt cttttgatga 3300  
ggagcttgctg caggttgctg ggcttccagc tattgaaaga ggagccctga cagagattgc 3360  
ttcgaggctt tgaactagga cactcagaga tggaaagtct tccaataatc cgacaccttt 3420  
tgccccigtg gatggctctc ctgttgatat ctggcctaac aaggaattca tgctatatgg 3480  
acgatctgct aatagtcctc catatggagg gcctgctaata gatccaccat atggaagacc 3540  
tgccatigat ccaccataatg gaagaccaat atccacaata tgggaagacct gccaatgac 3600  
caccatatag aagacctgtc aatgatacat cataatgagg gttgaacaat gatgggcctc 3660  
gtgatcaggc ccggtcctga ggggggtcga atggggcgat cgtccgggc ccccgattc 3720  
ccagggtccc cacctatctg tgcaacgagt agtagcgatc ttccagcgcg caacgtgagg 3780  
cgatgtttct ccgtgatttc gccggcctgc aactgcgaga tcgcgagtat aacgatcagc 3840  
cgatcgatct catctgccga ctgccatgct gatgccacac gcaagcgag catatcagcc 3900  
ttatcttggg tgatcgcat gctggacgag cacatctgtt gtcgcatcaa ctgctgactg 3960  
ctatatatgt gctgggtgctg aatcgatcga ttgtcgtcac ggaagtgaag aacaaccacg 4020  
gcactgctgc ctgctgggct ctagccgcca tcagctgcgg agctgatcca tggacgtgag 4080  
gattaccgaa gactgtcagg tctcactggg tatccagggt gcctgtctga attgtggatt 4140  
ccaaatagtt aactggagtc tgtcattggg gttgggtggg tcaatctagc tgagatccgt 4200  
ctggatatagc gtaagagaaa catcatgcac tatccccagt cataaccaatg cccaatggc 4260  
caccaatagt ttctctctg aaaatctccc ctgatccca gatctctggg gcgagagtga 4320  
agttgcacga agcccatcct ggttcttccg agtccattgt ggagatccag ggcatctcgg 4380  
atcaagtga agccgcacag agccttctgc aaggcttcat cggcgcaagc agcaacagca 4440  
ggcaggcgcc ccagtcctct cgcatggccc attatitttta gtaagctgga ggacattcgc 4500  
aacagggggg tcagtgggtc ctgcaaagct gagtttgttc ttcagttcaa ctgcagaaaa 4560  
ttgcagatcg gttgccgtag ttgctagaac ggtacatagt tgccacctaa ctgtagcgag 4620  
tggcataact tattgtgtgt tactgccccaa tgttgtctct ccttgtgttc atggattcag 4680  
acttgtgatt gtagtatttc tggatcagac tggagtaaaa gaaaaaaaaa aaggaagaca 4740  
tgggtttaac agtaagctca aaacgttgac agtagtaaaa taaaaggggt ttgttactt 4800  
taaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4820

<210> 70

<211> 4821

<212> DNA

<213> rice

<400> 70

cgatcgcgat ctccctgccc cgacgtcgcc ggccgatac tcattctctc cagccctgc 60  
tcgtcgccga tctctacac catccctgcc atctctctt tccctcccc tctatctctc 120  
actggtgccg cccacctctc cgtataagac aaactgcgtt gcggcggttg tttccgccgg 180  
cgctgctgct gcacctgtca gctagggcgg gcatggcgcg ccgcgcgcgt tcccgcgctg 240  
ttggcgccct tcgctcggaac ggctcgatcc aagggcgagg aggccgcgcg gggggcagtg 300  
gcgccgagga cgcacgccac gtgttcgacg aattgctccg ccgtggcagg ggccctcga 360  
tctacggcct gaaccgcgcc ctgcgcgacg tcgcgcgtga cagccccgcg gccgccgtgt 420  
cccgtacaa ccgcatggcc cgagccggcg ccgacgaggt aactcccgac ttgtgcacct 480  
acggcattct catcggttgc tgcgtccgcg cgggccgctt ggacctcggt ttcgcggcct 540  
tgggcaatgt catlaagaag ggatttagag tggacgcat cgccttact cctctgtca 600  
agggcctctg tgcgacaag aggacgagcg acgcaatgga catagtgtc cgcagaatga 660  
ccgagctcgg ctgcatacca aatgcttct cctacaatat tcttctcaag gggctgtgtg 720  
atgagaacag aagccaagaa gctctcgagc tgcctgacat gatggctgat gatcgaggag 780  
gaggtagccc acctgatgtg gtgtcgtata ccactgtcat caatggcttc ttcaaagagg 840  
gggattcaga caaagcttac agtacatacc atgaaatgct ggaccggggg attttacctg 900  
atgttgtgac ctacaactct attattgtcg cgttatgcaa ggctcaagct atggacaaag 960  
ccatggaggt acttaacacc atggttaaga atgggtgtcat gcctgattgc atgacatata 1020  
atagtattct gcatggatat tgcctctcag ggcagccgaa agaggctatt ggatttctca 1080  
aaaagatgcg cagtgatggt gtcgaaccag atgttgttac ttatagcttg ctcatggatt 1140  
atctttgcaa gaacggaaga tgcattggaag ctagaaagat ttctgattct atgaccaaga 1200  
ggggcctaaa gcctgaaatt actacctatg gtacctgtct tcaggggtat gctaccaaag 1260  
gagcccttgt tgagatgcat ggtctcttgg atttgatggt acgaaacggt atccaccttg 1320  
atcattatgt tticagcatt ctaatatgtg catacgctaa acaagggaaa gtagatcagg 1380  
caatgcttgt gttcagcaaa atgaggcagc aaggattgaa tccgaatgca gtgacgtatg 1440

gagcagttat aggcatactt tgcaagtcag gcagagtaga agatgcctatg ctttatitttg 1500  
agcagatgat cgaatgaagga ctaagccctg gcaacattgt ttataactcc ctaatticatg 1560  
gtttgtgcac ctgtaacaaa tgggagaggg ctgaagagtt aattcttgaa atgttggatc 1620  
gaggcatcig tctgaacact attttcttta attcaataat tgacagtcac tgcaaagaag 1680  
ggagggttat agaacttgaa aaactctttg agctgatggt acgtattggt gtgaagccca 1740  
atgtcattac ctacaatact cttatcaatg gatattgcct ggcaggtaag atggatgaag 1800  
caatgaagtt actttctggc atggctctcag ttgggttgaa acctaatatc gttacttata 1860  
gcactttgat taatggctac tgcaaaaatta gtaggatgga agacgcgta gttcttttta 1920  
aggagatgga gagcagtggg gttagtcctg atattattac gtataacata attctgcaag 1980  
gtttatttca aaccagaaga actgctgctg caaaagaact ctatgttagg attaccgaaa 2040  
gtggaacgca gattgaactt agcacatata acataatcct tcatggactt tgcaaaaaca 2100  
aactcaciga tgatgcactt cagatgtttc agaacctatg ttgatggat ttgaagcttg 2160  
aggctaggac ttcaacatt atgattgatg cattgcttaa agttggcaga aatgatgaag 2220  
ccaaggattt gtttgttgct ttctcgtcta acggtttagt gccgaattat tggacgtaca 2280  
ggttgatggc tgaaaatatt ataggacagg ggttgctaga agaattggat caactctttc 2340  
tttcaatgga ggacaatggc tgtactgttg actctggcat gctaaatttc attgttaggg 2400  
aactgttgca gagagggtgag ataaccaggg ctggcactta cttttccatg attgatgaga 2460  
agcacttttc cctcgaagca tccactgcct ctttgtttat agatcttttg tctgggggaa 2520  
aatatcaaga atattatagg ttcttccctg aaaaatacaa gtcctttata gaatctttga 2580  
gctgcigaag cattttgcag ctttgaaatt ctgtgttgga attcttttct cctacagtcc 2640  
tattagagga gggatcttct ctgtatgtgt aaatagcgag ttggaatgct agtgggaagct 2700  
cctttgacca tgttttgttg tgcgagcatt taagagagtg aagagaatgc ttctttgggtg 2760  
ctgttctggt atggaaggat ccacagataa aattcagtag tggccaaggt tggtgacggt 2820  
gatgggtggca tgtgatcccc cagatcttca gtgaccaga gaggagggga cggcgcgtgg 2880  
tgagctacaa ggcatactca gtggaggggca agatcaaggc ctcccgtccg taggggactc 2940  
cgctgcatca aggccaactg ctccgaactg atcaatttct ggtgcagaca ggtgccttgcg 3000  
gtcagggtta agaagtggc aaaaatgcct ctgaagaaag gttaatgtt gtttcatctc 3060  
aggagattcc agatgatcca gtgtctccaa caattgaggc gcttattttg ctccatagta 3120  
aagtaagtac acttgcctgag aaccaccagt tgacaacacg gcttgttgta ccatcaaaca 3180

aagtltggttg tattcttggg gaaggtggaa aggttaattac tgaaatgaga agacggactg 3240  
gggctgaaat ccgagcttac tcaaaagcag ataaacctaa gtacctgtct ttigtatgagg 3300  
agcttltgca ggtltgctggg ctccagcta ttgaaagagg agccctgaca gagattgctt 3360  
cgaggctttg aactaggaca ctacagagatg gaagttcttc caataatccg acaccttttg 3420  
ccccgttga tggctctctt gttgatactt tgcctaacaa ggaattcatg ctatatggac 3480  
gatctgctaa tagtccccca tatggagggc ctgctaata tccaccatai ggaagacctg 3540  
ccattgatcc accatatgga agaccaatat ccacaatatg gaagacctgc caatgatcca 3600  
ccatatagaa gacctgtcaa tgatacatca tattgagggt tgaacaatga tgggcctctg 3660  
gatcaggccc ggtcttgagg ggggtcgaat ggggcgatcg ctccgggccc cccgattccc 3720  
aggggcccca cctatctgtg caacgagtag tagcgatctt ccagcgcgca acgtgaggcg 3780  
atgtttctcc gtgatttcgc cggcctgcaa ctgcgagatc gcgagtataa cgatcagccg 3840  
atcgatctca tctgccgact gccatgctga tgccacacgc aagcgcagca tatcagcctt 3900  
atcttgggtg atcggcctgc tggacgagca catctgttgt cgcatacaact gctgactgct 3960  
atatatgtgc tgggtctgaa tcatcgatt gtctgcacgg aagtgaagaa caaccacggc 4020  
actgctgcct gctgggctct agccgccatc agctgcggag ctgatccatg gacgtgagga 4080  
ttaccgaaga ctgtcaggtc tcactgggia tccaggltggc tctgtcgaat tgtggattcc 4140  
aaatagttaa ctggagcttg tcatltggtgt tgggtggtgtc aatctagctg agatccgtct 4200  
ggtatagcgt aagagaaaca tcatgcacta tccccagtc taacctatgcc ccaatggcca 4260  
ccaatagttt tctctgtgaa aatctcccc tgateccaga tctctggtgc gagagtgaag 4320  
ttgcacgaag cccatcctgg tcttccgag tccattgttg agatccaggg cattccggat 4380  
caagtgaag ccgcacagag ccttctgcaa ggcttcatcg gcgcaagcag caacagcagg 4440  
caggcgcccc agtctctctg catggcccat tatttttagt aagctggagg acattcgcaa 4500  
caggggggtc agtggctact gcaaagctga gtttgttctt cagttcaact gcagaaaatt 4560  
gcagatcggg tgccttagtt gctagaacgg tacatagtgt ccacctaaact gtagcgagtg 4620  
gcataactta ttgttgttta ctgcccaatg ttgtctctcc ttgtgttcat ggattcagac 4680  
ttgtgattgt agtatttctg gatcagactg gagtaaaaga aaaaaaaaaa ggaagacatg 4740  
ggtttaacag taagctcaaa acgttgacag tagtaaaata aaaggggttt gttcacttia 4800  
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa a 4821

<210> 71

<211> 5005

<212> DNA

<213> rice

<400> 71

gagatcgatc gcgatctccc tgccccgacg tcgccggccg atctctcatt ctctccacgc 60  
cctgctcgtc gccgatctcc tacaccaatcc ctgccatctc ctctttcccc tccccctat 120  
cctccactgg tgccgcccac ctctccglat aagacaaact gcgttgcggc gttggtttcc 180  
gccggcgctg ctgctgcacc tgtcagctag ggccggcatt gcgcgccgcg ccgcttcccg 240  
cgctgttggc gcccttcgct cggacggctc gatccaaggc cgaggaggcc gcgcgggggg 300  
cagtggcgcc gaggacgcac gccacgtgtt cgacgaattg ctccgccgtg gcagggggcg 360  
ctcgatctac ggcttgaacc gcgcccctgc cgacgtcgcg cgtgacagcc ccgcggccgc 420  
cggtctccgc tacaaccgca tggcccagac cggcgccgac gaggtaactc ccgacttgtg 480  
cacctacggc attctcatcg gtgtgtgtg ccgcgcgggc cgcttggacc tcggtttcgc 540  
ggccttgggc aatgtcatta agaagggatt tagagtggac gccatgcct tcactcctct 600  
gctcaagggc ctctgtgccg acaagaggac gagcgacgca atggacatag tgctccgcag 660  
aatgaccgag ctcggttgca taccaaatgt ctctctctac aatattcttc tcaaggggct 720  
gtgtgatgag aacagaagcc aagaagctct cgagctgctg cacatgatgg ctgatgatcg 780  
aggaggaggt agcccacctg atgtggtgtc gtataccact gtcatcaatg gcttcttcaa 840  
agagggggat tcagacaaag cttacagtac ataccatgaa atgctggacc gggggatttt 900  
acctgatgtt gtgacctaca actctattat tgcctcgcta tgcaaggctc aagctatgga 960  
caaagccatg gaggtactta acaccatggt taagaatggt gtcatgccctg attgcatgac 1020  
atataatagt attctgcatg gatattgctc ttcagggcag ccgaaagagg ctattggatt 1080  
tctcaaaaag atgcgcagtg atggtgtcga accagatgtt gttacttata gcttgctcat 1140  
ggattatctt tgcaagaacg gaagatgcat ggaagctaga aagattttcg attctatgac 1200  
caagaggggc ctaaagccctg aaattactac ctatggatcc ctgcttcagg ggtatgctac 1260  
caaaggagcc ctgtttgaga tgcattggtct ctgggatttg atggtacgaa acggtatcca 1320  
ccctgatcat tatgttttca gcattctaat atgtgcatac gctaaacaag ggaaagtaga 1380  
tcaggcaatg ctgtgtttca gcaaaatgag gcagcaagga ttgaatccga atgcagtgc 1440

gtatggagca gttataggca tactttgcaa gtcaggcaga gtagaagatg ctatgcctta 1500  
ttttgagcag atgatcgaig aaggactaag ccttggcaac attgtttata actccctaata 1560  
tcatgggtttg tgcacctgta acaaatggga gagggctgaa gagttaattc ttgaaatgtt 1620  
ggatcgaggc atctgtctga acactatitt ctttaattca ataattgaca gtcattgcaa 1680  
agaagggagg gttatagaat ctgaaaaact ctttgagctg atgggtacgta ttggttgigaa 1740  
gccccaatgtc attacctaca atactcttat caatggatat tgcttggcag gtaagatgga 1800  
tgaagcaatg aagttacttt ctggcatggt ctacgttggg ttgaaaccta atactgttac 1860  
ttatagcact ttgattaatg gctactgcaa aattagtagg atggaagacg cgttagtctt 1920  
ttttaaggag atggagagca gtggtgttag tccgtatatt attacgtata acataattct 1980  
gcaaggitta ttccaacca gaagaactgc tgcctgcaaaa gaactctatg ttaggattac 2040  
cgaaagtga acgcagattg aacttagcac atacaacata atccttcatg gactttgcaa 2100  
aaacaaactc actgatgatg cacttcagat gtttcagaac ctatgtttga tggatttgaa 2160  
gcttgaggct aggactttca acattatgat tgatgcattg cttaaagtig gcagaaatga 2220  
tgaagccaag gatttgtttg ttgctttctc gtctaacggt ttagtgccga attattggac 2280  
gtacaggttg atggctgaaa atattatagg acaggggttg ctagaagaat tggatcaact 2340  
ctttctttca atggaggaca atggctgtac tgttgactct ggcatgctaa atttcattgt 2400  
tagggaactg ttgcagagag gtgagataac cagggttggc acttaccttt ccatgattga 2460  
tgagaagcac ttttccctcg aagcatccac tgccttcttg ttatagatc ttttgcttgg 2520  
gggaaaatat caagaatatt ataggtttct ccttgaaaaa tacaagtcct ttatagaatc 2580  
tttgagctgc tgaagcattt tgcagctttg aaattctgtg ttggaattct tttctcctac 2640  
agtcctatta gaggaggat cttctctgta tgtgtaaata gcgagttga atgctagtgg 2700  
aagctccttt gaccatgttt tgttgtgca gcatllaaga gagtgaagag aatgcctctt 2760  
tggtgctgtt ctggtatgga aggatccaca gataaaattc aggagaatat agtagtggcc 2820  
aaggttggig acggtgatgg tggcatgtga tccccagat cttcagtgac ccagagagga 2880  
ggggacggcg cgtggtgagc tacaaggcat actcagtga gggcaagatc aaggcctccc 2940  
gtccgtaggg gactccgctg catcaaggcc aactgctccg aactgatcaa tttctgggtc 3000  
agacaggigc ttgcggtcag gttaaagaag ttggcaaaaa tgcctctgaa gaaaggltaa 3060  
ttgttgtttc atctcaggag attccagatg atccagtgtc tccaacaatt gaggcgttta 3120  
ttttgctcca tagtaaagta agtacacttg ctgagaacca ccagttgaca acacggcttg 3180

tigtaccatc aaacaaagtt ggttgtatc ttggggaagg tggaaaggta attactgaaa 3240  
tgagaagacg gactggggct gaaatccgag tctactcaaa agcagataaa cctaagtacc 3300  
tgtcttttga tgaggagctt gtgcagggtg ctgggcctcc agctatigaa agaggagccc 3360  
tgacagagat tgcctcgagg ctttgaacta ggacactcag agatggaagt tcttccaata 3420  
atccgacacc ttttgccctt gttgatggtc ctctgttga tatcttgctt aacaaggaat 3480  
tcatgctata tggacgatct gctaatagtc ccccatatgg agggcctgct aatgatccac 3540  
catatggaag acctgccatt gatccacat atggaagacc aataiccaca atatggaaga 3600  
cctgccaatg atccaccata tagaagacct gtcaatgata catcataatg agggttgaac 3660  
aatgatgggc ctctgtatca ggcccggctc tgaggggggt cgaatggggc gatcgctccg 3720  
ggccccccga tccccagggc cccacctat ctgtgcaacg agtagtagcg atcttccagc 3780  
gcgcaacgtg aggcgatgtt tctccgtgat ttgccggcc tgcaactgcg agatcgcgag 3840  
tataacgac agccgatcga tctcatctgc cgactgccat gctgatgcca cacgcaagcg 3900  
cagcataatca gccttatctt gttgatcgg catgcaggac gagcacatct gttgtcgcat 3960  
caactgciga ctgctatata tgtgctgggt ctgaatcgat cgattgtcgt cacggaagtg 4020  
aagaacaacc acggcactgc tgcctgcagg gctctagccg ccatcagctg cggagctgat 4080  
ccatggacgt gaggattacc gaagactgtc aggtctcact gggtatccag gtggctctgt 4140  
cgaattgtgg attccaaata gtttaactgga gtctgtcatt ggtgttgggt gtgtcaatct 4200  
agctgagatc cgtcigggtat agcgttaagag aaacatcatg cactatcccc agtcataacc 4260  
atgccccaat ggccaccaat agttttcctc gtgaaaatct ccccttgatc ccagatctct 4320  
ggtgcgagag tgaagttgca cgaagcccat cctggttctt ccgagtccat tgtggagatc 4380  
cagggcattc cggatcaagt gaaagccgca cagagccttc tgcaaggctt catcggcgca 4440  
agcagcaaca gcaggcaggc gccccagtcc tctcgcatgg ccattatatt ttagtaagct 4500  
ggaggacatt cgcaacaggg gggtcagtgg tcactgcaaa gctgagtttg tcttccagtt 4560  
caactgcaga aaattgcaga tcggttgccg tagttgctag aacggtacat agttgccacc 4620  
taactgtagc gagtggcata acttattgtg tgttactgcc caatgtgtc tctccttgtg 4680  
ttcatggatt cagacttgtg attgtagtat tcttgatca gactggagta aaagaaaaaa 4740  
aaaaaggaag acatgggttt aacagtaagc tcaaaacgtt gacagtagta aaataaaagg 4800  
ggtttgttca ctttatctcc aatatcaacc ttaccaacat ttggcgttga atcatttata 4860  
ccacatcgct tgtgcagctg aatttggggc tgtttaaaag atggctctct ggattgctaa 4920



ttgcctcgcg gcaagcgtgg taccttgtac aatataaata taattataac tatttaattt 4980  
cataaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 5005

<210> 72

<211> 4978

<212> DNA

<213> rice

<400> 72

gcgatctccc tgccccgacg tcgccggccg atctctcatt ctctccacgc cctgctcgtc 60  
gccgatctcc tacaccatcc ctgccatctc ctccctcccc tcccctctat cctccactgg 120  
tgccgcccac ctctccgtat aagacaaact gcgttgcggc gttaggtttcc gccggcgctg 180  
ctgctgcacc tgtcagctag ggccggcatg gcgcgccgcg ccgcttcccg cgctgttggc 240  
gcccttcgtc cggacggctc gatccaaggg cgaggaggcc gcgcgggggg cagtggcgcc 300  
gaggacgcac gccacgtgtt cgacgaattg ctccgccgtg gcagggggcg ctcgatctac 360  
ggcttgaacc gcgccctcgc cgacgtcgcg cgtgacagcc ccgcggccgc cgtgtcccg 420  
tacaaccgca tggccccgagc cggcgccgac gaggttaact ccgacttgtg cacctacggc 480  
attctcatcg gttagctgtg ccgcgcgggc cgcttggacc tcggtttcgc ggccttgggc 540  
aatgtcatta agaagggatt tagagtggac gccatcgctt tcactccctt gctcaagggc 600  
ctctgtgccg acaagaggac gagcgacgca atggacatag tgctccgcag aatgaccgag 660  
ctcggctgca taccaaatgt ctctctctac aatattcttc tcaaggggct gtgtgatgag 720  
aacagaagcc aagaagctct cgagctgctg cacatgatgg ctgatgatcg aggaggaggt 780  
agcccacctg atgtgggtgc gtataccact gtcataatg gcttcttcaa agagggggat 840  
tcagacaaag cttacagtac ataccatgaa atgctggacc gggggatttt acctgatgtt 900  
gtgacctaca actctattat tgctgcgtta tgcaaggctc aagctatgga caaagccatg 960  
gaggtacctt acaccatggg taagaatggg gtcatgccctg attgcatgac atataatagt 1020  
attctgcatg gatattgcct ttccagggcag ccgaaagagg ctattggatt tctcaaaaag 1080  
atgcgcagtg atgggtgtga accagatgtt gttacttata gcttgcctcat ggattatctt 1140  
tgcaagaacg gaagatgcat ggaagctaga aagattttcg attctatgac caagaggggc 1200  
ctaaagcctg aaattactac ctatgggtacc ctgcctcagg ggtatgctac caaaggagcc 1260

cttggtgaga tgcattggctt ctgggatttg atgggtacgaa acggtatcca cctgatcat 1320  
tatgttttca gcaattctaata atgtgcatac gctaaacaag ggaaagtaga tcaggcaatg 1380  
cttggttca gcaaaatgag gcagcaagga ttgaatccga atgcagtac gtatggagca 1440  
gttataggca tactttgcaa gtcaggcaga gtagaagaatg ctatgcttta ttttgagcag 1500  
atgatcatg aaggactaag ccctggcaac attgtttata actccctaata tcatggtttg 1560  
tgcacctgta acaaatggga gagggctgaa gagttaattc ttgaaatgtt ggatcgaggc 1620  
atctgtctga acactatttt ctttaattca ataattgaca gtcatgcaa agaaggagg 1680  
gttatagaat ctgaaaaact ctttgagctg atgggtacgta ttgggttgaa gccaatgtc 1740  
attacctaca atactcttat caatggatat tgcctggcag gtaagatgga tgaagcaatg 1800  
aagttaattt ctggcatggt ctcatgtggg ttgaaacctt atactgttac ttatagcact 1860  
ttgattaatg gctactgcaa aattagtagg atggaagacg cgtagttct ttttaaggag 1920  
atggagagca gtgggtgttag tccgtatatt attacgtata acataattct gcaaggttta 1980  
tttcaaacca gaagaactgc tgcctgcaaaa gaactctatg ttaggattac cgaaagtgga 2040  
acgcagattg aacttagcac atacaacata atccctcatg gactttgcaa aaacaaactc 2100  
actgatgatg cacttcagat gtttcagaac ctatgtttga tggatttgaa gcttgaggct 2160  
aggactttca acattatgat tgatgcattg cttaaagttg gcagaaatga tgaagccaag 2220  
gatttgtttg ttgctttctc gtctaacggt ttagtgccga attatggac gtacaggttg 2280  
atggctgaaa atattatagg acaggggttg ctagaagaat tggatcaact ctttctttca 2340  
atggaggaca atggctgtac tgttgactct ggcatgctaa atttcattgt tagggaactg 2400  
ttgcagagag gtgagataac cagggctggc acttacctt ccatgattga tgagaagcac 2460  
ttttccctcg aagcatccac tgccttcttg tttatagatc ttttgtctgg gggaaaatat 2520  
caagaatatt ataggtttct ccctgaaaaa tacaagtcct ttatagaatc tttgagctgc 2580  
tgaagcattt tgcagctttg aaattctgtg ttggaattct tttctcctac agtcctatta 2640  
gaggagggat cttctctgta tgtgtaaata gcgagttga atgctagtgg aagctccttt 2700  
gaccatgttt tgttgtgcga gcatttaaga gagtgaagag aatgcttctt tgggtgtgtt 2760  
ctgggtatgga aggatccaca gataaaattc aggttctact gcttctctgc ttgtaatatt 2820  
catgaagctg cagtgaatac ctgttgacc acttgatctg ttgctttgaa ggagaatata 2880  
gtagtggcca aggttggtag cggtgatggt ggcatgtgat ccccagatc ttcatgacc 2940  
cagagaggag gggacggcgc gtgggtagct acaaggcata ctcatggag ggcaagatca 3000

aggcctcccg tccglagggg actccgctgc atcaaggcca actgctccga actgatcaat 3060  
ttctgggtgca gacagggtgct tgcgggtcagg ttaaagaagt tggcaaaaat gcttctgaag 3120  
aaagggttaat tgttgtttca tctcaggaga ttccagatga tccagtgtct ccaacaattg 3180  
aggcgcttat ttgtctccat agtaaagtaa gtacacttgc tgagaaccac cagtigacaa 3240  
cacggcttgt tgtaccatca aacaaagttg gtigtattct tggggaagggt ggaaaggtaa 3300  
ttactgaaat gagaagacgg actggggctg aaatccgagt ctactcaaaa gcagataaac 3360  
ctaagttacct gtcttttgat gaggagcttg tgcaggttgc tgggcttcca gctattgaaa 3420  
gaggagccct gacagagatt gcttcgaggc ttigaactag gacactcaga gatggaagtt 3480  
cttccaataa tccgacacct ttgtcccttg ttgatgttcc tctgtttgat atcttgccct 3540  
acaaggaatt catgtatata ggacgatctg ctatagttcc cccatatgga gggcctgcta 3600  
atgatccacc atatggaaga cctgccattg atccaccata tggaaagacca atatccacaa 3660  
tatggaagac ctgccaatga tccaccatai agaagacctg tcaatgatac atcataatga 3720  
gggttgaaca atgatggggc tctgtatcag gcccggtcct gaggggggtc gaatggggcg 3780  
atcgctccgg gcccccgat tcccaggggc cccacctatc tgtgcaacga gtatgagcga 3840  
tcttccagcg cgcaacgtga ggcgatgttt ctccgtgatt tgcgggcct gcaactgcga 3900  
gatcgcgagt ataacgatca gccgatcgat ctcatctgcc gactgccatg ctgatgccac 3960  
acgcaagcgc agcataatcag ccttatcttg gtgatcggc atgctggacg agcacatctg 4020  
ttgtcgcatc aactgtctgac tgctatatai gtgtgtgtgc tgaatcgatc gattgtctgc 4080  
acggaagtga agaacaacca cggcactgct gccgtctggg ctctagccgc catcagtaag 4140  
ctgcggagct gatccatgga cgtgaggatt accgaagact gtcaggctct actgggtatc 4200  
cagggtggctc tgtcgaattg tggattccaa atagttaact ggagtcgtc attggtgttg 4260  
gtgggtgcaa tctagctgag atccgtctgg tatagcgtaa gagaaacatc atgcactatc 4320  
cccagtcata accatgcccc aatggccacc aatagttttc ctctgaaaa tctcccttg 4380  
atcccagatc tctgggtgca gagtgaagtt gcacgaagcc catccctgtt ctccgagtc 4440  
cattgtggag atccagggca ttccggatca agtgaaagcc gcacagagcc ttctgcaagg 4500  
cttcatcggc gcaagcagca acagcaggca ggcgccccag tctctctgca tggcccatla 4560  
tttttagtaa gctggaggac attcgcaaca ggggggtcag tggctactgc aaagctgagt 4620  
ttgtcttca gtccaactgc agaaaattgc agatcggttg ccgtagtgtc tagaacggt 4680  
catagtgtcc acctaaactgt agcgagtggc ataacttatt gtgtgttact gcccaatgtt 4740

gtctctccit ggttcatgg attcagactt gtgattgtag tatttctgga tcagactgga 4800  
gtaaaagaaa aaaaaaaagg aagacatggg tttaacagta agctcaaaac gttgacagta 4860  
gtaaaataaa aggggtttgt tcacttttaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4920  
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaa 4978

<210> 73

<211> 4722

<212> DNA

<213> rice

<400> 73

cgccgatctc ctacaccatc cctgccaatc cctccctccc ctcctctcta tcttccactg 60  
gtgccgcca cctctccgta taagacaaac tgcgttgcgg cgttggtttc cgccggcgct 120  
gctgctgcac ctgtcagcta gggcgggcat ggcgcgccgc gccgttccc gcgctgttgg 180  
cgcccttcgc tggacggct cgtccaagg gcgaggaggc cgcgcggggg gcagtggcgc 240  
cgaggacgca cgccacgtgt tgcacgaatt gctccgccgt ggcagggggc cctcgatcta 300  
cggcttgaac cgcgccctcg ccgacgtcgc gcgtgacagc cccgcggccg ccgtgtcccg 360  
ctacaaccgc atggcccgag ccggcgccga cgaggttaact cccgacttgt gcacctacgg 420  
cattctcatc ggttgcctgt gccgcgcggg ccgcttggac ctcggtttcg cggccttggg 480  
caatgtcatt aagaagggat ttagagtgga cgccatcgcc ttacttctc tgcctcaagg 540  
cctctgtgcc gacaagagga cgagcgacgc aatggacata gtcctccgca gaatgaccga 600  
gctcggctgc ataccaaag tcttctccta caatattctt ctcaaggggc tgtgtgatga 660  
gaacagaagc caagaagctc tcgagctgct gcacatgatg gctgatgatc gaggaggagg 720  
tagccacact gatgtgggtg cgtataccac tgtcatcaat ggcttcttca aagaggggga 780  
ttcagacaaa gcttacagta cataccatga aatgctggac cgggggatit tacctgatgt 840  
tgtgacctac aactctatta ttgttgcgtt atgcaaggct caagctatgg acaaagccat 900  
ggaggtactt aacacatagg ttaagaatgg tgcattgcct gattgcatga catataatag 960  
tattctgcat ggataattgt ctccagggca gccgaaagag gctattggat ttctcaaaaa 1020  
gatgcgcagt gatggtgtcg aaccagatgt tgttacttat agcttgcctc tggattatct 1080  
ttgcaagaac ggaagatgca tggaaagctag aaagattttc gattctatga ccaagagggg 1140

cctaaagcct gaaattacta cctatggtac cctgcttcag gggatgcta ccaaaggagc 1200  
ccttggtgag atgcatggic tcttggattt gatggtacga aacggtaacc accctgatca 1260  
ttaigtittc agcattctaa tatgtgcata cgctaaacaa gggaaagtag atcaggcaat 1320  
gcttggtgtc agcaaaatga ggcagcaagg attgaatccg aatgcagtga cgtatggagc 1380  
agttataggc atacittgca agtcaggcag agtagaagat gctatgcttt attttagaca 1440  
gatgatcgat gaaggactaa gccctggcaa cattgtttat aactccctaa ttcatggitt 1500  
gtgcacctgt aacaaatggg agagggctga agagttaatt ctgaaatgt tggatcgagg 1560  
catctgtctg aacactatit tctttaattc aataattgac agtcattgca aagaaggagc 1620  
ggttatagaa tctgaaaaac tctttgagct gatggtacgt attggtgtga agcccaatgt 1680  
cattacctac aatactctta tcaatggata ttgcttggca ggtaagatgg atgaagcaat 1740  
gaagttaact tctggcatgg tctcagttgg gttgaaacct aatactgtta cttatagcac 1800  
tttgattaat ggctactgca aaattagtag gatggaagac gcgttagttc tttttaagga 1860  
gatggagagc agtgggtgtta gtccgtatat tattacgtat aacataattc tgcaagggtt 1920  
atttcaaacc agaagaactg ctgctgcaaa agaactctat gttaggatta ccgaaagtgg 1980  
aacgcagatt gaacttagca catacaacat aatccctcat ggactttgca aaaacaaact 2040  
cactgatgat gcacttcaga tgtttcagaa cctatgittg atggatttga agcttgaggc 2100  
taggactttc aacattatga ttgatgcatt gcttaaagtt ggcagaaatg atgaagccaa 2160  
ggatttggtt gttgctttct cgtctaacgg tttagtgccg aattattgga cgtacaggtt 2220  
gatggctgaa aatattatag gacaggggtt gctagaagaa ttggatcaac tctttctttc 2280  
aatggaggac aatggctgta ctgttgactc tggcatgcta aatttcattg ttagggaact 2340  
gttgcagaga ggtgagataa ccagggtcgg cacttacctt tccatgattg atgagaagca 2400  
cttttccctc gaagcatcca ctgcttccct gtttatagat cttttgtctg ggggaaaata 2460  
tcaagaatat tataggtttc tccctgaaaa atacaagtcc tttatagaat ctttgagctg 2520  
ctgaagcatt ttgcagcttt gaaattctgt gttggaattc ttttctccta cagtcctatt 2580  
agaggaggga tcttctctgt atgtgtaaat agcgagtttg aatgctagtg gaagctcctt 2640  
tgaccatgtt ttgttgtgct agcatltaag agagtgaaga gaatgcctct ttgggtgctgt 2700  
tctggtatgg aaggatccac agataaaaat caggttctac tgcctctctg ctigtatatt 2760  
tcatgaagct gcagtgaata ccttggtgac cacttgatct gttgctttga aggagaatat 2820  
agtagtggcc aaggttgggtg acggtgatgg tggcatgtga tccccagat cttcagtgc 2880

ccagagagga ggggacggcg cgtgggtgagc tacaaggcat actcagtgga gggcaagatc 2940  
aaggcctccc giccgtaggg gactccgctg catcaaggcc aactgctccg aactgatcaa 3000  
tttctgggtgc agacagggtgc ttgcgggtcag gttaaagaag ttggcaaaaa tgcttctgaa 3060  
gaaaggttaa ttgttgtttc atctcaggag attccagatg atccagtgtc tccaacaatt 3120  
gaggcgctta ttttgctcca tagtaaagtg gaaaggtaat tactgaaatg agaagacgga 3180  
ctggggctga aatccgagtc tactcaaaag cagataaacc taagttacctg tcttttgatg 3240  
aggagcttgt gcaggttgct gggcttccag ctattgaaag aggagccctg acagagattg 3300  
cttcgaggct ttgaactagg acactcagag atggaagttc ttccaataat ccgacacctt 3360  
ttgccccgtg tgaiggttct cctgttgata tcttgcctaa caaggaattc atgctatatg 3420  
gacgatctgc taatagtccc ccatatggag ggccctgctaa tgatccacca tatggaagac 3480  
ctgccattga tccacatat ggaagaccaa tatccacaat atggaagacc tgccaatgat 3540  
ccaccatata gaagacctgt caatgatata tcataatgag ggttgaacaa tgatgggcct 3600  
cgtgatcagg cccgggtccg aggggggtcg aatggggcga tcgctccggg cccccgatt 3660  
cccaggggccc ccacctatct gtgcaacgag tagtagcgat ctccagcgc gcaacgtgag 3720  
gcgatgtttc tccgtgatit cgccggccctg caactgcgag atcgcgagta taacgatcag 3780  
ccgatcgatc tcatctgccg actgccatgc tgatgccaca cgcaagcgca gcataatcagc 3840  
cttatcttgg ttgatcggca tgcctggacga gcacatctgt tgcgcatca actgctgact 3900  
gctatataatg tgcctgggtct gaatcgatcg attgtcgtca cggaagtga gaacaaccac 3960  
ggcactgctg cctgctgggc tctagccgcc atcagctgcg gagctgatcc atggacgtga 4020  
ggattaccga agactgtcag gtctcactgg gtatccaggt ggctctgtcg aattgtggat 4080  
tccaaatagt taactggagt ctgtcattgg tgttgggtgt gtcaatctag ctgagatccg 4140  
tctgggtatag cgtaagagaa acatcatgca ctatccccag tcataaccat gcccacatgg 4200  
ccaccaatag ttttctctgt gaaaatctcc ccttgatccc agatctctgg tgcgagagt 4260  
aagttgcacg aagcccatcc tggctcttcc gagtccattg tggagatcca gggcattccg 4320  
gatcaagtga aagccgcaca gagccttctg caaggcttca tcggcgcaag cagcaacagc 4380  
aggcaggcgc ccagtcctc tcgcatggcc cattattttt agtaagctgg aggacattcg 4440  
caacaggggg gtcagtgtc actgcaaagc tgagtgtgtt cttcagtcca actgcagaaa 4500  
attgcagatc ggttgccgta gttgctagaa cggtacatag ttgccacctt actgtagcga 4560  
gtggcataac ttatttgttg ttactgcccc atgtgtctc tcttgtgtt catggattca 4620

gacttgtgat tgtagtatit ctggatcaga ctggagtaaa agaaaaaaaa aaaggaagac 4680  
atgggtitaa cagtaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 4722

<210> 74

<211> 6164

<212> DNA

<213> rice

<400> 74

cgcagaagag atcgalcgcg atctccctgc cccgacgtcg ccggccgatic tctcattctc 60  
tccacgccct gctcgtcgcc gatctcctac accatccctg ccatctcctc ctccccctcc 120  
cctctatcct ccactgggtc cgcccacctc tccgtataag acaaactgcg ttgcggcggt 180  
ggtttccgcc ggcgcgtcgt ctgcacctgt cagctagggc gggcatggcg cgccgcgccc 240  
cttcccgcg cgttggcgcc cttcgctcgg acggctcgat ccaaggcgga ggaggccgcg 300  
cgggggggcag tggcgccgag gacgcacgcc acgltgtcga cgaattgctc cgccgtggca 360  
ggggcgccct gatctacggc ttgaaccgcg cctcgcgga cgtcgcgcgt gacagccccg 420  
cgcccgccgt gtcccgctac aaccgcatgg cccgagccgg cgccgacgag gtaactcccg 480  
acttgtgcac ctacggcatt ctcatcggtt gctgctgccc cgccgggccc ttggacctcg 540  
gtttcgcggc ctggggcaat gtcatthaaga agggatitag agtggacgcc atcgccitca 600  
ctcctctgct caagggcctc tgtgccgaca agaggacgag cgacgcaatg gacatagtcg 660  
tccgcagaat gaccgagctc ggcgtcatat caaatgtctt ctctacaat attcttctca 720  
aggggctgtg tgatgagaac agaagccaag aagctctcga gctgctgcac atgatggctg 780  
atgatcgagg aggaggtagc ccacctgatg tgggtgtcgt taccactgtc atcaatggct 840  
tcttcaaaga gggggattca gacaaagctt acagtacata ccatgaaatg ctggaccggg 900  
ggattttacc tgaigtgtgt acctacaact ctattattgc tgcgttatgc aaggctcaag 960  
ctatggacaa agccatggag gtaacttaaca ccatgggtta gaatgggtgt atgcctgatt 1020  
gcatgacata taatagtatt ctgcatggat attgctcttc agggcagccg aaagaggcta 1080  
ttggatttct caaaaagatg cgcagtgaat gtgtcgaacc agatgttgtt acttatagct 1140  
tgcicatgga ttatctttgc aagaacggaa gatgcatgga agctagaaaag attttcgatt 1200  
ctatgaccaa gaggggccta aagcctgaaa ttactacctt tggtaacctg cttcaggggt 1260

atgctaccaa aggagccctt gttgagatgc atggctcctt ggatttgatg gtacgaaacg 1320  
gtatccaccc tgaatcattat gttttcagca ttctaataatg tgcatacgcct aaacaaggga 1380  
aagtagatca ggcaatgctt gtgttcagca aaatgaggca gcaaggattg aatccgaatg 1440  
cagtgacgta tggagcagtt ataggcatac ttigcaagtc aggcagagta gaagatgcta 1500  
tgctttatctt tgagcagatg atcgatgaag gactaagccc tggcaacatt gtttataact 1560  
ccctaattca tggtttctgc acctgtaaca aaatgggagag ggctgaagag ttaattcttg 1620  
aaatgttggc tggaggcatc tgcctgaaca ctattttctt taattcaata attgacagtc 1680  
attgcaaaga agggagggtt atagaatctg aaaaactctt tgagctgatg gtacgtattg 1740  
gtgtgaagcc caatgtcatt acctacaata ctcttatcaa tggatattgc ttggcaggta 1800  
agatggatga agcaatgaag ttactttctg gcatggcttc agttgggttg aaacciaata 1860  
ctgttactta tagcactttg attaatggct actgcaaaat tagtaggatg gaagacgcgt 1920  
tagttctttt taaggagatg gagagcagtg gtgttagtcc tgatattatt acgtataaca 1980  
taattctgca aggtttatctt caaaccagaa gaactgctgc tgcaaaagaa ctctatgtta 2040  
ggattaccga aagtggaaacg cagattgaac ttagcacata caacataatc ctatcatggac 2100  
tttgcaaaaa caaactcact gatgatgcac ttcagatgtt tcagaacctt tgtttgatgg 2160  
atttgaagct tgaggctagg actttcaaca ttatgataga tgcattgcct aaagttaggca 2220  
gaaatgatga agccaaggat ttgtttgttg ctctctcgtc taacgggtta gtgccgaatt 2280  
attggacgta caggttgatg gctgaaaata ttataggaca ggggttgcta gaagaatttg 2340  
atcaactctt tctttcaatg gaggacaatg gctgtactgt tgactctggc atgctaaatt 2400  
tcattgttag ggaactgttg cagagagggt agataaccag ggctggcact tacctttcca 2460  
tgattgatga gaagcacttt tccctcgaag catccactgc ttctttgttt atagatcttt 2520  
tgcttggggg aaaatatcaa gaatattata ggtttctccc tgaaaaatac aagtccttta 2580  
tagaatcttt gagctgctga agcattttgc agctttgaaa ttctgtgttg gaattctttt 2640  
ctcctacagt cctattagag gagggatctt ctctgtatgt gtaaatagcg aggtatgtat 2700  
gccacctctc cgaattatctt ttactgttgt tcctagactg taaacaagca attatgttat 2760  
gcgtttgatg ccagaaaaaa cataaaagt ttgtcgttatc tctactaacg gatcataaag 2820  
ggatttgtga ctggagtctc aaacttaatg tgcttaggca gtaattttga cattagatcc 2880  
aaaacaattt atagggttct attaaattct atctatgtgt actgtttagg tgttgaatag 2940  
tttgacttgt tttttaactg aacaaaagat atgtctgaag cttgttctt taccaaatgc 3000



agtactgata atcacaatat attttttatg gaacaagatt ggattgtata gaatggtttc 3060  
tgatctgatt atcttatctc aacgtattat taigcacatg tactaatcat gaaatatcig 3120  
atggaatgat gtttctatit accgtgttga ggcagcaagg agtgagatgg ataacaccac 3180  
atactccctc tgtcccagaa tataagaagt tttagagtig gacacgatta ttaagaaagt 3240  
aggtagaagt gagtagtgga gggttgtgat tgcattgagta gtggaggtag gtgggaaaag 3300  
tgaatggtag agggttgtga ttggttggga agagaatgtt ggtagagaag ttgttatatt 3360  
ttggggagta cattattatt ctagaacaat actgtttgtc tcaagaagcg ttccaaagat 3420  
gtttcacaac ctgtgctcga tgggttttga gcttaatcct gggacattca gtatcatgat 3480  
ctgtctcatt cttaaacatg gaataaagga tgacagcatg atttctttgt ctctataatc 3540  
ttttggctac ccacagataa tagctgtaaa tctatactac tttaaaagga gtagtggtag 3600  
tggtgagtag tgaatctgcc accacccac caccaactct caaaattcig acatgtggga 3660  
tcactgtcaa tcccttctcc aagacatgtg ggatcacgtt caatcccttc tccaaaccaa 3720  
ttgtatgata gaacagttag aatcacggac agaccatgga gctctcaacc ataatcatcc 3780  
ttgcgagtta ataacaaatg gagcgttaac ttggcaagca aaaaactcaa attaatctta 3840  
aaattaaagt ctaggattca aaatagattt cctctctgca ttgtgctgtt atgattttta 3900  
attccgtaac aacgcaaatg cattttgcta gtcttataaa gaagggttaa tgcaaatatt 3960  
ctgattaaat gatgtatct atgaagttt aatgctagtg gaagctcctt tgaccatgtt 4020  
ttgttgtgag agcatttaag agagtgaaga gaatgcttct ttgggtgctgt tctggtagtg 4080  
aaggatccac agataaaat caggttctac tgccttcttg ctgttaattt tcatgaagct 4140  
gcagtgaata ccttgttgac cacttgatct gttgctttga aggagaatat agtagtggcc 4200  
aaggttggtag acggtgatgg tggcatgtga tccccagat ctacagtac ccagagagga 4260  
ggggacggcg cgtggtgagc tacaaggcat actcagtga gggcaagatc aaggcctccc 4320  
gtccgtaggg gactccgctg catcaaggcc aactgctccg aactgatcaa ttcttggtgc 4380  
agacaggtag ttgcggtcag gttaaagaag ttggcaaaaa tgcctctgaa gaaagggtta 4440  
ttgttgtttc atctcaggag attccagatg atccagtgtc tccaacaatt gaggcgctta 4500  
ttttgtccca tagtaaaagta agtacacttg ctgagaacca ccagttgaca acacggcttg 4560  
ttgtaccatc aaacaaagt ggttgtattc ttggggaagg tggaaaggta attactgaaa 4620  
tgagaagacg gactggggct gaaatccgag tctactcaaa agcagataaa cctaagtlacc 4680  
tgtcttttga tgaggagctt gtgcaggttg ctgggcttcc agctattgaa agaggagccc 4740

tgacagagat tgcttcgagg ctltgaacta ggacactcag agatggaagt tcttccaata 4800  
atccgacacc ttttgccctt gttgatggc ctcctgttga tatcttgcc t aacaaggaat 4860  
tcatgctata tggacgaict gctaatagtc ccccataatgg agggcctgct aatgatccac 4920  
cataiggaag acctgccatt gatccacat atggaagacc aatatccaca atatggaaga 4980  
cctgccaaig atccaccata tagaagacct gtcaatgata catcatattg agggttgaac 5040  
aatgatgggc ctctgatca ggcccggctc tgaggggggt cgaatggggc gatcgctccg 5100  
ggccccccga tccccagggc cccacctat ctgtgcaacg agtagtagcg atcttccagc 5160  
gcgcaacgtg aggcgatgtt tctccgtgat ttccgggcc tgcaactgcg agatcgcgag 5220  
tataacgaic agccgatcga tctcatctgc cgactgccat gctgatgcca cacgcaagcg 5280  
cagcatatca gccttatctt ggttgatcgg catgctggac gagcacatct gttgtcgcat 5340  
caactgctga ctgctatata tgtgctgggt ctgaatcgat cgattgtcgt cacggaagt 5400  
aagaacaacc acggcacctgc tgcctgctgg gccttagccg ccatcagctg cggagctgat 5460  
ccatggacgt gaggattacc gaagactgtc aggtctcact gggtatccag gtggctctgt 5520  
cgaattgtgg attccaaata gtttaactgga gtctgtcatt ggtgttgggt gtgtcaatct 5580  
agctgagatc cgtctgggtat agcgtaagag aaacatcatg cactatcccc agtcataacc 5640  
atgccccaat ggccaccaat agtttccctc gtgaaaatct ccccttgatc ccagatctct 5700  
ggtgagagag tgaagtigca cgaagcccat cctggttctt ccgagttcat tgtggagatc 5760  
cagggcattc cggatcaagt gaaagccgca cagagccttc tgcaaggctt catcggcgca 5820  
agcagcaaca gcaggcaggc gccccagtcc tctcgcatgg cccattatct ttagtaagct 5880  
ggaggacatt cgcaacaggg gggtcagtgg tcactgcaaa gctgagtttg tcttccagt 5940  
caactgcaga aaattgcaga tcggttgccg tagttgctag aacggtacat agttgccacc 6000  
taactgtagc gagtggcata acttattgtg tgttactgcc caatgtgtc tctccttg 6060  
ttcatggatt cagacttg 6120  
aaaaaggaag acatgggttt aacagtaaaa aaaaaaaaaa aaaa 6164

<210> 75

<211> 791

<212> PRT

<213> rice

&lt;400&gt; 75

Met	Ala	Arg	Arg	Ala	Ala	Ser	Arg	Ala	Val	Gly	Ala	Leu	Arg	Ser
1				5					10					15
Asp	Gly	Ser	Ile	Gln	Gly	Arg	Gly	Gly	Arg	Ala	Gly	Gly	Ser	Gly
				20					25					30
Ala	Glu	Asp	Ala	Arg	His	Val	Phe	Asp	Glu	Leu	Leu	Arg	Arg	Gly
				35					40					45
Arg	Gly	Ala	Ser	Ile	Tyr	Gly	Leu	Asn	Arg	Ala	Leu	Ala	Asp	Val
				50					55					60
Ala	Arg	Asp	Ser	Pro	Ala	Ala	Ala	Val	Ser	Arg	Tyr	Asn	Arg	Met
				65					70					75
Ala	Arg	Ala	Gly	Ala	Asp	Glu	Val	Thr	Pro	Asp	Leu	Cys	Thr	Tyr
				80					85					90
Gly	Ile	Leu	Ile	Gly	Cys	Cys	Cys	Arg	Ala	Gly	Arg	Leu	Asp	Leu
				95					100					105
Gly	Phe	Ala	Ala	Leu	Gly	Asn	Val	Ile	Lys	Lys	Gly	Phe	Arg	Val
				110					115					120
Asp	Ala	Ile	Ala	Phe	Thr	Pro	Leu	Leu	Lys	Gly	Leu	Cys	Ala	Asp
				125					130					135
Lys	Arg	Thr	Ser	Asp	Ala	Met	Asp	Ile	Val	Leu	Arg	Arg	Met	Thr
				140					145					150
Glu	Leu	Gly	Cys	Ile	Pro	Asn	Val	Phe	Ser	Tyr	Asn	Ile	Leu	Leu
				155					160					165
Lys	Gly	Leu	Cys	Asp	Glu	Asn	Arg	Ser	Gln	Glu	Ala	Leu	Glu	Leu
				170					175					180
Leu	His	Met	Met	Ala	Asp	Asp	Arg	Gly	Gly	Gly	Ser	Pro	Pro	Asp
				185					190					195
Val	Val	Ser	Tyr	Thr	Thr	Val	Ile	Asn	Gly	Phe	Phe	Lys	Glu	Gly
				200					205					210

Asp Ser Asp Lys Ala Tyr Ser Thr Tyr His Glu Met Leu Asp Arg		
	215	220 225
Gly Ile Leu Pro Asp Val Val Thr Tyr Asn Ser Ile Ile Ala Ala		
	230	235 240
Leu Cys Lys Ala Gln Ala Met Asp Lys Ala Met Glu Val Leu Asn		
	245	250 255
Thr Met Val Lys Asn Gly Val Met Pro Asp Cys Met Thr Tyr Asn		
	260	265 270
Ser Ile Leu His Gly Tyr Cys Ser Ser Gly Gln Pro Lys Glu Ala		
	275	280 285
Ile Gly Phe Leu Lys Lys Met Arg Ser Asp Gly Val Glu Pro Asp		
	290	295 300
Val Val Thr Tyr Ser Leu Leu Met Asp Tyr Leu Cys Lys Asn Gly		
	305	310 315
Arg Cys Met Glu Ala Arg Lys Ile Phe Asp Ser Met Thr Lys Arg		
	320	325 330
Gly Leu Lys Pro Glu Ile Thr Thr Tyr Gly Thr Leu Leu Gln Gly		
	335	340 345
Tyr Ala Thr Lys Gly Ala Leu Val Glu Met His Gly Leu Leu Asp		
	350	355 360
Leu Met Val Arg Asn Gly Ile His Pro Asp His Tyr Val Phe Ser		
	365	370 375
Ile Leu Ile Cys Ala Tyr Ala Lys Gln Gly Lys Val Asp Gln Ala		
	380	385 390
Met Leu Val Phe Ser Lys Met Arg Gln Gln Gly Leu Asn Pro Asn		
	395	400 405
Ala Val Thr Tyr Gly Ala Val Ile Gly Ile Leu Cys Lys Ser Gly		
	410	415 420
Arg Val Glu Asp Ala Met Leu Tyr Phe Glu Gln Met Ile Asp Glu		

425	430	435
Gly Leu Ser Pro Gly Asn Ile Val Tyr Asn Ser Leu Ile His Gly		
440	445	450
Leu Cys Thr Cys Asn Lys Trp Glu Arg Ala Glu Glu Leu Ile Leu		
455	460	465
Glu Met Leu Asp Arg Gly Ile Cys Leu Asn Thr Ile Phe Phe Asn		
470	475	480
Ser Ile Ile Asp Ser His Cys Lys Glu Gly Arg Val Ile Glu Ser		
485	490	495
Glu Lys Leu Phe Glu Leu Met Val Arg Ile Gly Val Lys Pro Asn		
500	505	510
Val Ile Thr Tyr Asn Thr Leu Ile Asn Gly Tyr Cys Leu Ala Gly		
515	520	525
Lys Met Asp Glu Ala Met Lys Leu Leu Ser Gly Met Val Ser Val		
530	535	540
Gly Leu Lys Pro Asn Thr Val Thr Tyr Ser Thr Leu Ile Asn Gly		
545	550	555
Tyr Cys Lys Ile Ser Arg Met Glu Asp Ala Leu Val Leu Phe Lys		
560	565	570
Glu Met Glu Ser Ser Gly Val Ser Pro Asp Ile Ile Thr Tyr Asn		
575	580	585
Ile Ile Leu Gln Gly Leu Phe Gln Thr Arg Arg Thr Ala Ala Ala		
590	595	600
Lys Glu Leu Tyr Val Arg Ile Thr Glu Ser Gly Thr Gln Ile Glu		
605	610	615
Leu Ser Thr Tyr Asn Ile Ile Leu His Gly Leu Cys Lys Asn Lys		
620	625	630
Leu Thr Asp Asp Ala Leu Gln Met Phe Gln Asn Leu Cys Leu Met		
635	640	645

Asp	Leu	Lys	Leu	Glu	Ala	Arg	Thr	Phe	Asn	Ile	Met	Ile	Asp	Ala
				650					655					660
Leu	Leu	Lys	Val	Gly	Arg	Asn	Asp	Glu	Ala	Lys	Asp	Leu	Phe	Val
				665					670					675
Ala	Phe	Ser	Ser	Asn	Gly	Leu	Val	Pro	Asn	Tyr	Trp	Thr	Tyr	Arg
				680					685					690
Leu	Met	Ala	Glu	Asn	Ile	Ile	Gly	Gln	Gly	Leu	Leu	Glu	Glu	Leu
				695					700					705
Asp	Gln	Leu	Phe	Leu	Ser	Met	Glu	Asp	Asn	Gly	Cys	Thr	Val	Asp
				710					715					720
Ser	Gly	Met	Leu	Asn	Phe	Ile	Val	Arg	Glu	Leu	Leu	Gln	Arg	Gly
				725					730					735
Glu	Ile	Thr	Arg	Ala	Gly	Thr	Tyr	Leu	Ser	Met	Ile	Asp	Glu	Lys
				740					745					750
His	Phe	Ser	Leu	Glu	Ala	Ser	Thr	Ala	Ser	Leu	Phe	Ile	Asp	Leu
				755					760					765
Leu	Ser	Gly	Gly	Lys	Tyr	Gln	Glu	Tyr	Tyr	Arg	Phe	Leu	Pro	Glu
				770					775					780
Lys	Tyr	Lys	Ser	Phe	Ile	Glu	Ser	Leu	Ser	Cys				
				785					790	791				

&lt;210&gt; 76

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; artificial sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Oligonucleotide primer for amplification

&lt;400&gt; 76

tctcatttc tccacgccct gctc 24

<210> 77  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 77  
acggcggagc aattcgtcga acac 24

<210> 78  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 78  
agtgtgtggc atggtgcatt tccg 24

<210> 79  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> artificial sequence  
<220>  
<223> Oligonucleotide primer for amplification  
<400> 79  
ctctacagga tacacgggtgt aagg 24

<210> 80

<211> 4746

<212> DNA

<213> rice

<400> 80

gcccgcgcaga agagatcgat cgcgaicicc ctgccccgac gtcgcccggcc gatctctcat 60  
tctctccacg ccttgctcgt cgccgaicic ctacaccatc cctgccatct cctccttccc 120  
ctccccctcta tcttccactg gtcgcccga cctctccgta taagacaaac tgcgttgcgg 180  
cgttgggttc cgccggcgct gctgctgcac ctgtcagcta gggcggggcat ggcgcgccgc 240  
gccgcitccc gcgcigtigg cgcccttcgc tcggacggct cgatccaagg gcgaggaggc 300  
cgcgccgggg gcagtgggcg cgaggacgca cgccacgtgt tgcacgaatt gctccgccgt 360  
ggcagggggcg cctcgatcta cggttgaac cgcccttcg ccgacgtgc gcgtgacagc 420  
cccgcggccg ccgtgtcccg ctacaaccgc atggcccgag ccggcgccga cgaggtaact 480  
cccgacttgi gcacctacgg cattctcatc ggttgcgtgt gccgcgcggg ccgcttggac 540  
ctcggtttcg cgcccttggg caatgtcatt aagaagggat ttagagtgga cgccatcgcc 600  
ttcactcctc tgcitcaagg cctctgtgcc gacaagagga cgagcgacgc aatggacata 660  
gtgctccgca gaatgaccga gctcggctgc ataccaaatg tcttctccta caatattctt 720  
ctcaaggggc tgtgtgatga gaacagaagc caagaagctc tcgagctgct gcacatgatg 780  
gctgatgatc gaggaggagg tagccacct gatgtggtgt cgtataccac tgtcatcaat 840  
ggcttcttca aagaggggga ttacagacaaa gcttacagta catacatga aatgctggac 900  
cgggggattt tacttgatgt tgtgacctac aactctatta ttgctgcgtt atgcaaggct 960  
caagctatgg acaaagccat ggaggctact aacacatgg ttaagaatgg tgtcatgcct 1020  
gattgcatga catataatag tattctgcat ggatattgct cttcagggca gccgaaagag 1080  
gctattggat ttctcaaaaa gatgcgcagt gatgggtcgc aaccagatgt tgttacttat 1140  
agcttgctca tggattatct ttgcaagaac ggaagatgca tgggaagctag aaagatttct 1200  
gattctatga ccaagagggg cctaaagccg gaaattacta cctatggtag cctgcttcag 1260  
gggtatgcta ccaaaggagc ccttgttgag atgcatggct tcttggattt gatggtagca 1320  
aacggtaicc accctgatca ttaigtcttc agcattctaa tatgtgcata cgctaaacaa 1380  
gggaaagtag atcaggcaat gcttgtgttc agcaaatga ggcagcaagg attgaatccg 1440  
aatgcagtga cgtatggagc agtataaggc atactttgca agtcaggcag agtagaagat 1500



gctatgcctt attttgagca gatgatcgat gaaggactaa gccctggcaa cattgtttat 1560  
aactccctaa ttcattgggtt gtgcacctgt aacaaatggg agagggtga agagttaatt 1620  
cttgaaatgt tggatcgagg catctgtctg aacactatit tctttaattc aataattgac 1680  
agtcattgca aagaaggag ggttatagaa tctgaaaaac tctttgagct gatggtacgt 1740  
attggttga agcccaatgt cattacctac aatactctta tcaatggata ttgcttggca 1800  
ggtaagatgg atgaagcaat gaagttactt tctggcatgg tctcagttgg gttgaaacct 1860  
aatactgtta cttatagcac ttgattaat ggctactgca aaattagtag gatggaagac 1920  
gcgttagttc tttttaagga gatggagagc agtgggtgta gtcctgatat tattacgtat 1980  
aacataattc tgcaagggtt atttcaaacc agaagaactg ctgctgcaaa agaactctat 2040  
gttaggatta ccgaaagtgg aacgcagatt gaacttagca catacaacat aatccctcat 2100  
ggactttgca aaaacaaact cactgatgat gcacttcaga tgtttcagaa cctatgtttg 2160  
atggatttga agcttgaggc taggactttc aacattatga ttgatgcatt gcttaaagtt 2220  
ggcagaaatg atgaagccaa ggatttgttt gtgctttctt cgtctaacgg tttagtgccg 2280  
aattatttga cgtacagggt gatggctgaa aatattatag gacaggggtt gctagaagaa 2340  
ttggatcaac tctttctttc aatggaggac aatggctgta ctgttgactc tggcatgcta 2400  
aatttcattg ttagggaact gttagcagaga ggtgagataa ccagggtcgg cacttacctt 2460  
tccatgattg atgagaagca cttttccctc gaagcatcca ctgcttccct gtttatagat 2520  
cttttgtctg ggggaaaata tcaagaatat tataggtttc tccctgaaaa atacaagttc 2580  
tttatagaat ctttgagctg ctgaagcatt ttgcagcttt gaaattctgt gttggaattc 2640  
ttttctccta cagtcctatt agaggaggga tcttctctgt atgtgtlaaat agcgagtttg 2700  
aatgctagtg gaagctcctt tgacctgtt ttgttgtcgg agcatttaag agagtgaaga 2760  
gaatgcttct ttggtgtctg tctggtatgg aaggatccac agataaaatt cagtagtggc 2820  
caaggtttgt gacggigtat gtggcatgtg atccccaga tcttcagtga cccagagagg 2880  
aggggacggc gcgtggtag ctacaaggca tactcagtgg agggcaagat caaggcctcc 2940  
cgctccgtagg ggactccgtt gcatcaaggc caactgtctc gaactgatca atttctggtg 3000  
cagacagggt cttgcggtca ggttaaagaa gtgggcaaaa atgcttctga agaaagggtta 3060  
attgttgttt catctcagga gattccagat gatccaggtt ctccaacaat tgaggcgctt 3120  
attttgtctc atagttaaagt aagttacatt gctgagaacc accagttgac aacacggctt 3180  
gttgtacct caaacaaggt tggltgtatt ctgggggaag gtggaaaggt aattactgaa 3240

atgagaagac ggactigggc tgaatccga gtctactcaa aagcagataa acctaagtac 3300  
ctgtcttttg atgaggagct tgtgcagggt gctgggcctc cagctattga aagaggagcc 3360  
ctgacagaga ttgcttcgag gcttgaact aggacactca gagatggaag ttcttccaat 3420  
aatccgacac cttttgcccc tgttgatggt cctcctgttg atatcttgcc taacaaggaa 3480  
ttcatgctat atggacgac tgcataatgt ccccatatg gagggcctgc taatgatcca 3540  
ccatattgaa gacctgccat tgatccacca tatggaagac caatatccac aatatggaag 3600  
acctgccaat gatccacat atagaagacc tgtcaatgat acatcatatt gagggttgaa 3660  
caatgatggg cctcgtgac aggcccggtc ctgagggggg tcgaatgggg cgatcgctcc 3720  
gggcccccg attcccaggg ccccaccta tctgtgcaac gagiagtagc gatcttccag 3780  
cgcgcaacgt gaggcgatgt ttctccgtga ttccgccggc ctgcaacigc gagatcgca 3840  
gtataacgat cagccgatcg atctcatctg ccgactgcca tgcgatgcc acacgcaagc 3900  
gcagcataac agccttatct tggttgatcg gcatgcigga cgagcacatc tgttgcgca 3960  
tcaactgctg actgctatat atgtgctggt gctgaatcga tcgattgtcg tcacggaagt 4020  
gaagaacaac cagggcacig ctgcctgctg ggctctagcc gccatcagct gcggagctga 4080  
tccatggacg tgaggattac cgaagactgt caggctcac tgggtatcca ggtggctctg 4140  
tcgaattgtg gattccaaat agttaactgg agtctgtcat tgggtgtggt ggtgtcaatc 4200  
tagctgagat ccgtctggtg tagcgtaaga gaaacatcat gcaatatccc cagtcataac 4260  
catgcccacaa tggccaccaa tagttttcct cgtgaaaatc tccccttgat cccagatctc 4320  
tgggtcgaga gigaagltgc acgaagccca tccitggttct tccgagtcca ttgtggagat 4380  
ccagggcatt ccggatcaag tgaagccgc acagagcctt ctgcaaggct tcatcggcgc 4440  
aagcagcaac agcaggcagg cgtcccagtc ctctcgcatg gccattatt tttagtaagc 4500  
tggaggacat tcgcaacagg ggggtcagtg gtcactgcaa agctgagttt gttcttcagt 4560  
tcaactgcag aaaattgcag atcggttgcc gtagttgcta gaacggtaca tagttgccac 4620  
ctaactgtag cgagtggcat aacttatgt gtgttactgc ccaatgttgt ctctccttgt 4680  
gttcatggat tcagacttgt gattgtagta ttctcggatc agactggagt aaaagaaaaa 4740  
aaaaaa 4746

<210> 81

<211> 4779

<212> DNA

<213> rice

<400> 81

tctcattctc tccacgccct gctcgtcgcc gatctcctac accatcccig ccatctcctc 60  
cttccccctc cctctatcct ccactgggtgc cgcccaccctc tccgtataag acaaactgcg 120  
ttgcggcggtt ggtttccgcc ggcgcctgctg ctgcacctgt cagctagggc gggcatggcg 180  
cgccgcgccc cttcccgcg cgtttggcgcc cttcgctcgg acggctcgat ccaagggcga 240  
ggaggccgcg cggggggcag tggcgccgag gacgcacgcc acgtgttcga cgaattgctc 300  
cgccgtggca ggggcgcctc gatctacggc ttgaaccgcg ccttcgccga cgtcgcgcgt 360  
gacagccccg cggccgccgt gtcccgtctac aaccgcattg cccgagccgg cgccgacgag 420  
gtaactcccg acttggcgac ctacggcatt ctcatcggtt gctgcctgctg cgcgggcccgc 480  
ttggacctcg gtttcgcggc cttgggcaat gtcatlaaga agggatttag agtggacgcc 540  
atgccttca ctctctcgt caagggcctc tgtgccgaca agaggacgag cgacgcaatg 600  
gacatagtgc tccgcagaat gaccgagctc ggctgcatac caaatgtctt ctcttacaat 660  
attcttctca aggggctgtg tgatgagaac agaagccaag aagctctcga gctgctgcac 720  
atgatggctg atgatcgagg aggaggtagc ccacctgatg tgggtgcgta taccactgtc 780  
atcaatggct tcttcaaaga gggggattca gacaaagctt acagtacata ccatgaaatg 840  
ctggaccggg ggattttacc tgatgttgtg acctacaact ctattattgc tgcgttatgc 900  
aaggctcaag ctatggacaa agccatggag gtacttaaca ccatggttaa gaatgggtgc 960  
atgcctgatt gcatgacata taatagtatt ctgcatggat attgccttc agggcagccg 1020  
aaagaggcta ttggatttct caaaaagatg cgcagtgatg gtgtcgaacc agatgttgtt 1080  
acttatagct tgcctatgga ttatctttgc aagaacggaa gatgcatgga agctagaaag 1140  
attttcgatt ctatgaccaa gaggggccta aagcctgaaa ttactacctt tggtagccctg 1200  
cttcaggggt atgctaccaa aggagccctt gttgagatgc atggctctctt ggatttgatg 1260  
gtacgaaacg gtatccaccc tgatcattat gttttcagca ttctaatatg tgcatacgct 1320  
aaacaaggga aagtagatca ggcaatgctt gtgttcagca aaatgaggca gcaaggattg 1380  
aatccgaatg cagtgcgta tggagcagtt ataggcatac ttgtcaagtc aggcagagta 1440  
gaagatgcta tgcctttatt tgagcagatg atcgaatgaag gactaagccc tggcaacatt 1500  
gtttataact ccttaattca tggtttgtgc accigtaca aatgggagag ggcigaagag 1560

ttaattcttg aaatgttga tcgaggcatc tgtctgaaca ctattttctt taattcaata 1620  
attgacagtc attgcaaaga agggaggggtt atagaatctg aaaaactctt tgagctgatg 1680  
gtacgtatig gtgtgaagcc caatgtcatt acctacaata ctcttatcaa tggatattgc 1740  
ttggcaggta agatggatga agcaatgaag ttactttctg gcatggctctc agttgggttg 1800  
aaacctaata ctgttactta tagcactttg attaatggct actgcaaaat tagtaggatg 1860  
gaagacgcgt tagttctttt taaggagatg gagagcagtg gtgttagtcc tgatatatt 1920  
acgtataaca taattctgca aggtttatatt caaaccagaa gaactgctgc tgcaaaagaa 1980  
ctctatgta ggattaccga aagtggaacg cagatigaac tttagcacata caacataatc 2040  
cttcattggac ttgcaaaaaa caaactcact gatgatgcac ttcagatgtt tcagaacct 2100  
tgtttgatgg atttgaagct tgaggctagg actttcaaca ttatgattga tgcatigctt 2160  
aaagtiggca gaaatgatga agccaaggat ttgtttgttg ctttctcgtc taacggttta 2220  
gtgccgaatt attggacgia caggttgatg gctgaaaata ttataggaca ggggttgcta 2280  
gaagaattgg atcaactctt tctttcaatg gaggacaatg gctgtactgt tgactctggc 2340  
atgctaaatt tcattgttag ggaactgttg cagagagggtg agataaccag ggctggcact 2400  
taccittcca tgattgatga gaagcacttt tccctcgaag catccactgc ttccittgtt 2460  
atagatcttt tgtctggggg aaaatatcaa gaatatata ggtttctccc tgaaaaatac 2520  
aagtccttta tagaatcttt gagctgctga agcatittgc agctttgaaa ttctgtgttg 2580  
gaattctttt ctctacagt cctattagag gagggatctt ctctgtatgt gtaaatagcg 2640  
agtttgaatg ctagtgaag ctctttgac catgttttgt tgtgcgagca ttttaagagag 2700  
tgaagagaat gcttctttgg tgctgtctg gtatggaagg atccacagat aaaattcagg 2760  
agaatatagt agtggccaag gtgtgtgacg gtgatgggtg catgtgatcc cccagatctt 2820  
cagtgacca gagaggaggg gacggcgcgt ggtgagctac aaggcatact cagtggaggg 2880  
caagatcaag gcctcccgic cgtaggggac tccgctgcat caaggccaac tgctccgaac 2940  
tgatcaattt ctgggtcaga caggtgcttg cggtcagggt aaagaagttg gcaaaaatgc 3000  
ttctgaagaa aggttaattg ttgtttcatc tcaggagatt ccagatgatc cagtgtctcc 3060  
aacaattgag gcgcttattt tgctccatag taaagtaagt acacttgctg agaaccacca 3120  
gttgacaaca cggtttgttg taccatcaaa caaagttggt tgtattcttg gggaagggtg 3180  
aaaggtaatt actgaaatga gaagacggac tggggctgaa atccgagict actcaaaagc 3240  
agataaacct aagtlacctgt cttttgatga ggagcttgtg caggttgctg ggcttccagc 3300

tattgaaaga ggagccctga cagagattgc ttcgaggctt tgaactagga cactcagaga 3360  
tggaagtict iccaataatc cgacaccttt tgcccttggt gatggctcctc ctgttgatat 3420  
cttgcctaac aaggaattca tgctataatg acgatctgct aatagtcctc catatggagg 3480  
gcctgctaata gatccacat atggaagacc tgccattgat ccaccataatg gaagaccaat 3540  
atccacaata tggaagacct gccaatgac caccatatag aagacctgtc aatgatacat 3600  
cataattgagg gttaacaat gatgggctc gtgacaggc ccggtcctga ggggggtcga 3660  
atggggcgat cgctccgggc ccccgattc ccagggtccc cacctatctg tgcaacgagt 3720  
agtagcgatc ttccagcgcg caacgtgagg cgatgttict ccgtgatttc gccggcctgc 3780  
aactgcgaga tcgcgagiat aacgatcagc cgatcgatct catctgccga ctgccatgct 3840  
gatccacac gcaagcgag catatcagcc ttatcttggt tgatcggcat gctggacgag 3900  
cacatctgtt gtgcataca ctgctgactg ctatataatg gctgggtgctg aatcgatcga 3960  
ttgtctcac ggaagtgaag aacaaccacg gcactgctgc ctgctgggtc ctagccgcca 4020  
tcagctgcgg agctgatcca tggacgtgag gattaccgaa gactgtcagg tctactggg 4080  
tatccagggt gctctgtcga attgtggatt ccaaatagtt aactggagtc tgtcattggt 4140  
gttgggtgtg tcaatctagc tgagatccgt ctggtatagc gtaagagaaa catcatgcac 4200  
tatccccagt cataaccatg cccaatggc caccaatagt ttctctctg aaaatctccc 4260  
cttgatccca gatctctggt gcgagagiga agttgcacga agcccatcct ggttcttccg 4320  
agtcattgt ggagatccag ggcatctcgg atcaagtga agccgcacag agccttctgc 4380  
aaggcttcat cggcgcaagc agcaacagca ggcaggcgcc ccagtcctct cgcatggccc 4440  
attattttta gtaagctgga ggacattcgc aacagggggg tcagtgggtca ctgcaaagct 4500  
gagtttgttc ttcagttcaa ctgcagaaaa ttgcagatcg gttgccgtag ttgctagaac 4560  
ggtacatagt tgccacctaa ctgtagcgag tggcataact tattgtgtgt tactgccccaa 4620  
tgttgtctct ccttgtgttc atggattcag acttgtgatt gtagtatttc tggatcagac 4680  
tggagtaaaa gaaaaaaaaa aaggaagaca tgggtttaac agtaaaaaaa aaaaaaaaaa 4740  
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 4779

<210> 82

<211> 6158

<212> DNA

&lt;213&gt; rice

&lt;400&gt; 82

cgcgcagaag agatcgatcg cgaatcctct gccccgacgt cgccggccga tctctcattc 60  
tctccacgcc ctgctcgctg ccgatcctct acaccatccc tgccatctcc tcttccccct 120  
ccccctatc ctccactggt gccgcccacc tctccgtata agacaaactg cgcttgcggcg 180  
ttggttttccg ccggcgctgc tgcctgcacct gtcagctagg gcggggcatgg cgcgccgcgc 240  
cgcttccccgc gctgttggcg ccttctgctc ggacggctcg atccaagggc gaggaggccg 300  
cgcgggggggc agtggcgccg aggacgcacg ccacgtgttc gacgaatgc tccgccgtgg 360  
cagggggcgcc tcatctacg gcttgaaccg cgccctcgcc gacgtcgcg gtgacagccc 420  
cgcgggccgc gtgtcccgct acaaccgcat ggcccagacc ggcgccgacg aggttaactcc 480  
cgacttgtgc acctacggca ttctcatcgg ttgctgctgc cgcgcggggc gcttggacct 540  
cggtttgcgc gccctgggca atgtcatiaa gaagggattt agagtggacg ccatcgccctt 600  
cactcctctg ctcaagggcc tctgtgccga caagaggacg agcgacgcaa tggacatagt 660  
gctccgcaga atgaccgagc tcggctgcat accaaatgtc ttctcctaca atatcttct 720  
caaggggctg tgtgatgaga acagaagcca agaagctctc gagctgctgc acatgatggc 780  
tgatgatcga ggaggaggta gccacctga tgtgggtgctg tataccactg tcatcaatgg 840  
cttcttcaaa gagggggatt cagacaaagc ttacagtaca taccatgaaa tgcctggaccg 900  
ggggatittta cctgatgttg tgacctacaa ctctattatt gctgcgttat gcaaggctca 960  
agctatggac aaagccatgg aggtacttaa caccatgggt aagaatggtg tcatgcctga 1020  
ttgcatgaca tataatagta ttctgcatgg atattgctct tcagggcagc cgaaagaggc 1080  
tattggattt ctcaaaaaga tgcgcagtga tgggtgcgaa ccagatgttg ttacttatag 1140  
cttgcctatg gattatcttt gcaagaacgg aagatgcatg gaagctagaa agattttcga 1200  
ttctatgacc aagagggggc taaagcctga aattactacc tatggtacc tgcctcaggg 1260  
gtatgctacc aaaggagccc ttgttgagat gcatggctct ttggatttga tggctacgaaa 1320  
cggatccac cctgatcatt atgttttcag cattctaata tgtgcatacg cttaaacaagg 1380  
gaaagtagat caggcaatgc ttgtgttcag caaaatgagg cagcaaggat tgaatccgaa 1440  
tgcagtgacg tatggagcag ttataggcat actttgcaag tcaggcagag tagaagatgc 1500  
tatgcittat tttagacaga tgatcgatga aggactaagc cctggcaaca ttgtttataa 1560  
ctccctaatt catggtttgt gcacctgtaa caaatgggag agggctgaag agttaattct 1620

tgaaatgttg gatcgaggca tctgtctgaa cactatititc ttttaattcaa taattgacag 1680  
tcatitgcaa gaaggaggagg ttatagaatc tgaaaaactc tttgagctga tggtagctat 1740  
tgggtgtgaag cccaatgtca ttacctacaa tactcttate aatggatait gcttggcagg 1800  
taagatggat gaagcaatga agttactitc tggcatggtc tcagltgggt tgaaacctaa 1860  
tactgttact tatagcactt tgattaatgg ctactgcaaa attagtagga tggaagacgc 1920  
gttagttctt ttttaaggaga tggagagcag tgggtgttagt cctgatatta ttacgtataa 1980  
cataaitctg caaggtttat ttcaaaccag aagaactgct gctgcaaaag aactctatgt 2040  
taggattacc gaaagtggaa cgcagattga acttagcaca tacaacataa tccttcatgg 2100  
actitgcaa aacaaactca ctgatgatgc acttcagatg tttcagaacc tatgtttgat 2160  
ggatttgaag cttagaggct ggactttcaa cattatgatt gatgcattgc ttaaagttgg 2220  
cagaaatgat gaagccaagg atttgtttgt tgccttctcg tctaacgggt tagtgccgaa 2280  
ttattggacg tacaggttga tggctgaaaa tattatagga caggggttgc tagaagaatt 2340  
ggatcaactc ttcttttcaa tggaggacaa tggctgtact gttagctctg gcatgctaaa 2400  
tticatitgt agggaactgt tgcagagagg tgagataacc agggctggca cttacctitc 2460  
catgattgat gagaagcact ttccctcga agcatccact gcttcttgt ttatagatct 2520  
tttgtctggg ggaaaataatc aagaatatta taggtttctc cctgaaaaat acaagtcctt 2580  
tatagaatct ttgagctgct gaagcatttt gcagcttga aattctgtgt tggaattctt 2640  
ttctcttaca gtcttattag aggagggatc ttctctgtat gtgtaaatag cgaggtatgt 2700  
atgccaccctc tccgaattat ttttactgtg gticcttagac tgtaaacaag caattatgtt 2760  
atgctgttga tggcagaaaa aacataaaag tttgtcgtta tctctactaa cggatcataa 2820  
agggatttgt gactggagtt tcaaacttaa tgtgtctagg cagtaatttt gacattagat 2880  
ccaaaacaat ttatagggtt tcattaaatt tcatctatgt gtactgttta ggtgttgaat 2940  
agtttgactt gttttttaac tgaacaaaag atatgtctga agcttltgtc ttaccacaaat 3000  
gcagtactga tcatcacaat atatttttta tggacaaga ttggattgta tagaatggtt 3060  
tctgatctga ttatcttate tcaacgtatt attatgcaca tgtactaatc atgaaataatc 3120  
tgatggaatg atgtttctat ttacctgtgt gaggcagcaa ggagttagat ggataacacc 3180  
acatactccc tctgtcccag aatataagaa gttttagagt tggacacgat tattaagaaa 3240  
gtaggtagaa gtgagtagtg gagggttgtg attgcatgag tagtggaggt aggtgggaaa 3300  
agtgaatggt ggagggttgt gatlggttgg gaagagaatg ttggtagaga agttgttata 3360

ttttggggag tacattalta ttctagaaca atactgttgt gctcaagaag cgttccaaag 3420  
atgtttcaca accgtgtgtc gatgggtttt gagcttaatc ctgggacatt cagtatcatg 3480  
atctgtctca ttcttaaaaca tggaaataaag gatgacagca tgatttcttt gtctctataa 3540  
tcttttggct acccacagat aatagctgta aatctatact actttaaaag gagtagtggt 3600  
ggtggtgagt ggtgaatctg ccaccacccc accaccaact ctcaaaattc tgacatgtgg 3660  
gatcactgtc aatcccttct ccaagacatg tgggatcact gtcaatccct tctccaaacc 3720  
aatigtatga tagaacagtg gaaatcacgg acagaccaatg gagctctcaa ccataatcat 3780  
ccitgcgagt taataacaaa tggagcgtaa acttggcaag caaaaaactc aaattaattc 3840  
taaaattaag ctctaggatt caaaatagat ttccctctctg cattgtgtctg ttaigtattt 3900  
taattccgta acaacgcaaa tgcattttgc tagtcttata aagaagggtt aatgcaaata 3960  
ttctgattaa atgattgtat ctatgaagtt tgaatgctag tggagctcc ttgaccaatg 4020  
ttttgttgtg cgagcattta agagagtga gagaatgctt ctttgggtgt gttcttggtat 4080  
ggaaggatcc acagataaaa ttcaggagaa tatagtagtg gccaaagggtg gtgacgggtg 4140  
tgggtggcatg tgatccccc gatcttcagt gaccagaga ggaggggacg gcgcgtgggtg 4200  
agctacaagg catactcagt ggagggcaag atcaaggcct cccgtccgta ggggactccg 4260  
ctgcatcaag gccaaactgt cccaactgat caatttcttg tgcagacagg tgccttgcgtg 4320  
caggttaaag aagtltggcaa aaatgcttct gaagaaagggt taattgttgt ttcatctcag 4380  
gagattccag atgatccagt gtctccaaca attgaggcgc ttattttgtc ccatagtaaa 4440  
gtaagtacac ttgctgagaa ccaccagttg acaacacggc ttgttgtacc atcaaacaaa 4500  
gtltggttgta ttcttgggga aggttgaaag gtaattactg aaatgagaag acggactggg 4560  
gctgaaatcc gagtctactc aaaagcagat aaacctaaagt acctgtcttt tgatgaggag 4620  
cttgtgcagg ttgtctgggt tccagctatt gaaagaggag ccctgacaga gattgcttcg 4680  
aggctttgaa ctaggacact cagagaatga agttcttcca ataatccgac accttttgcc 4740  
cctgttgatg gtctctctgt tgatatcttg cctaacaagg aattcatgct atatggacga 4800  
tctgctaata gtccccata tggagggcct gctaataatc caccatatgg aagacctgcc 4860  
attgatccac catatggaag accaatatcc acaatatgga agacctgcca atgatccacc 4920  
atatagaaga cctgtcaatg atacatcata ttgagggttg aacaatgatg ggcctcgtga 4980  
tcaggccccg tcttgagggg ggtcgaatgg ggcgatcgt cggggcccc cgattcccag 5040  
ggccccacc tatctgtgca acgagtagta gcgatcttcc agcgcgcaac gtgaggcgat 5100



gtttctccgt gatttcgccg gcctgcaact gcgagatcgc gagtataacg atcagccgat 5160  
 cgatctcaic tgcgcactgc catgctgatg ccacacgcaa gcgcagcata tcagccttat 5220  
 cttaggttgat cggcatgctg gacgagcaca tctgttctcg catcaactgc tgactgctat 5280  
 atatgtgctg gtgctgaatc gatcgattgt cgtcacggaa gtgaagaaca accacggcac 5340  
 tgcctgcctgc tgggcctctag ccgccatcag ctgcggagct gatccatgga cgtgaggatt 5400  
 accgaagact gtcaggctct actgggtatc cagggtggctc tgtcgaattg tggattccaa 5460  
 atagttaacc ggagctctgc attgggtgtg gtgggtgtcaa tctagctgag atccgtctgg 5520  
 tatagcgtaa gagaacaatc atgcactatc cccagtcata accatgcccc aatggccacc 5580  
 aatagttttc ctctgtgaaa tctccccctg atcccagatc tctggctgca gagtgaagti 5640  
 gcacgaagcc catcctgggt cttccgagtc catgttggag atccagggca ttcgggatca 5700  
 agtgaagacc gcacagagcc ttctgcaagg ctctatcggc gcaagcagca acagcaggca 5760  
 ggccgccccag tctctctgca tggcccatia tttttagtaa gctggaggac attcgcaaca 5820  
 ggggggtcag tggctacatgc aaagctgagt ttgttcttca gtccaactgc agaaaattgc 5880  
 agatcggttg ccgtagtctg tagaacggta catagtctgc acctaacctgt agcgagtggc 5940  
 ataacttatt gtgtgttact gcccaatgtt gtctctcctt gtgttcatgg attcagactt 6000  
 gtgattgtag tatttcttga tcagacttga gtaaaagaaa aaaaaaaagg aagacatggg 6060  
 ttttaacagta aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 6120  
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaa 6158

<210> 83

<211> 2864

<212> DNA

<213> rice

<400> 83

aagagatcga tgcgcatctc cctgccccga cgtcgccggc cgatctctca ttctctccac 60  
 gccctgtctg tgcggatctt cctacacat ccttgccatc tctctcttcc cctccccctt 120  
 atcttccact ggtagccgcc acccttccgt ataagacaaa ctgcgttgcg gcgttggttt 180  
 ccgcccggcg tgcctgtgca cctgtcagct agggcgggca tggcgcgccg cgccgcttcc 240  
 cgcgctgttg gcgcccctcg ctcgacggc tcatccaag ggcgaggagg ccgcgcgggg 300

ggcagtggcg ccgaggacgc acgccacgig ttcgacgaat tgcctccgccg tggcaggggc 360  
gcctcgatct acggcttgaa ccgcgccctc gccgacgtcg cgcgtgacag ccccgcggcc 420  
gccgtgtccc gctacaaccg catggcccca gccggcgccg acgaggtaac tcccgacttg 480  
tgcacctacg gcattctcat cggttgctgc tgcgcgcgg gccgcttgga cctcggtttc 540  
gcggccttgg gcaatgtcat taagaaggga tttagagtgg acgccatcg cttcactcct 600  
ctgctcaagg gcctctgtgc cgacaagagg acgagcgacg caatggacat agtgcctccg 660  
agaatgaccg agctcggctg cataccaa atgtcttctt acaatatct tctcaagggg 720  
ctgtgtgatg agaacagaag ccaagaagct ctgagctgc tgcacatgat ggctgatgat 780  
cgaggaggag gtagccacc tgaatgggtg tegtatacca ctgtatcaa tggcttcttc 840  
aaagaggggg attcagacaa agcttacagt acataccatg aaatgctgga cggggggatt 900  
ttacctgatg ttgtgacctt caactctatt attgctgcgt tatgcaaggc tcaagctatg 960  
gacaaagcca tggaggtact taacacatg gtttaagaatg gtgtcatgcc tgattgcatg 1020  
acataataa gtattctgca tggatattgc tcttcagggc agccgaaaga ggctattgga 1080  
tttctcaaaa agatgcgcag tgaatgggtg gaaccagatg ttgttactta tagcttgctc 1140  
atggattatc ttgcaagaa cggaagatgc atggaagcta gaaagatttt cgattctatg 1200  
accaagaggg gcctaaagcc tgaattact acctatggta ccttgcttca ggggtatgct 1260  
accaaaggag ccttgttga gatgcatggt ctcttggatt tgaatggtag aaacggatc 1320  
cacctgatc attatgtttt cagcattcta atatgtgcat acgctaaaca agggaaagta 1380  
gatcaggcaa tgcctgtgtt cagcaaaatg aggcagcaag gattgaatcc gaatgcagt 1440  
acgtatggag cagttatagg catactttgc aagtcaggca gagtagaaga tgctatgctt 1500  
tattttgagc agatgatcga tgaaggacta agccctggca acattgttta taactcccta 1560  
attcatgggt tgtgcacctg taacaaatgg gagagggctg aagagtta atcttgaaatg 1620  
ttggatcgag gcattctgtt gaacactatt tcttttaatt caataattga cagtcattgc 1680  
aaagaaggga gggttataga atctgaaaaa ctctttgagc tgaatggtag tattgggtgt 1740  
aagcccaatg tcattacctt caatactctt atcaatggat attgcttggc aggttaagatg 1800  
gatgaagcaa tgaagtact tcttggcatg gtctcagttg ggttgaaacc taatactgtt 1860  
acttatagca ctttgattaa tggctactgc aaaattagta ggatggaaga cgcgttagtt 1920  
ctttttaagg agatggagag cagtgggtgt agtcttgata ttattacgta taacataatt 1980  
ctgcaagggt tatttcaaac cagaagaact gctgcigcaa aagaactcta tgitaggatt 2040

accgaaagtg gaacgcagat tgaacttagc acatacaaca taatccttca tggactttgc 2100  
 aaaaacaaac tcactgatga tgcacttcag atgtttcaga acctatgttt gatggatttg 2160  
 aagcttigagg ctaggacttt caacattatg attgatgcat tgcttaaagt tggcagaaat 2220  
 gatgaagcca aggatttggt tgttgctttc tcgtctaacg gtttagtgcc gaattatitgg 2280  
 acgtacaggt tgatggctga aaataattata ggacaggggt tgctagaaga attgatcaa 2340  
 ctctttcttt caatggagga caatggctgt actgttgact ctggcatgct aaatttcatt 2400  
 gttagggaaac tgttcagag aggtgagata accagggctg gcacttacct ttccatgatt 2460  
 gatgagaagc acttttccct cgaagcatcc actgcttccct tgtttataga tcttttgcct 2520  
 gggggaaaaat atcaagaata ttatagggtt ctccctgaaa aatacaagtc ctttatagaa 2580  
 tctttgagct gctgaagcat tttgcagctt tgaattctg tgttggaatt cttttctcct 2640  
 acagtccat tagaggaggg atcttctctg tatgtgtaaa tagcgaggta tgtatgccac 2700  
 ctctccgaat tatttttact gtggttccca gactgtaaac aagcaattat gttatgctgt 2760  
 tgatgccaga aaaaacataa aagtttgcg ttatctctac taacggatca taaagggatt 2820  
 tgtgactgga gtttcaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaa 2864

<210> 84

<211> 2819

<212> DNA

<213> rice

<400> 84

ctcatctctt ccacgccctg ctgctgccg atctcctaca ccacccctgc catctcctcc 60  
 ttccctctcc ctctatcttc cactgggtgcc gccacctct ccgtataaga caaactgcgt 120  
 tgcggcggtg gtttcgcgcg gcgctgctgc tgcacctgic agctagggcg ggcatggcgc 180  
 gccgcgcgc ttcccgcgct gttggcgccc ttgcctcgga cggctcgatc caagggcgag 240  
 gagggcgcg gcgggggcagt ggcgccgagg acgcacgcca cgigtctgac gaattgctcc 300  
 gccgtggcag gggcgccctc atctacggct tgaaccgcgc cctcgccgac gtcgcgcgtg 360  
 acagccccgc ggccgcccgt tcccgctaca accgcatggc ccgagccggc gccgacgagg 420  
 taactccga ctgtgcacc tacggcattc tcatcggttg ctgctgccgc gcgggcccgt 480  
 tggacctcgg ttctcgggcc ttgggcaatg tcaataagaa gggattitaga gtggacgcca 540

tcgcccttcac tccctcgcgc aagggcctct gtgccgacaa gaggacgagc gacgcaatgg 600  
acatagtgtc cgcagaaig accgagctcg gcctgatacc aaatgtcttc tccatacata 660  
ttctttctcaa ggggcctgtgt gatgagaaca gaagccaaga agctctcgag ctgctgcaca 720  
tgatggctga tgategagga ggaggtagcc caccitgltt ggigtctgtt accactgtca 780  
tcaatggcctt ctcaaaagag ggggattcag acaaagctta cagtacatac catgaaatgc 840  
tggaccgggg gattttacct gatgttgtga cctacaactc tattattgtt gcgttatgca 900  
aggctcaagc tatggacaaa gccatggagg tacttaacac catgggttaag aatgggtgtca 960  
tgcctgattg catgacatat aatagttatc tgcattgata ttgtctctca gggcagccga 1020  
aagaggctat tggattttct aaaaagatgc gcagtgtatg tgtcgaacca gatgttgtta 1080  
cttatagctt gctcatggat tatcttttga agaacggaag atgcatggaa gctagaaaga 1140  
ttttcgattc tatgaccaag aggggcctaa agcctgaaat tactacctat ggtaccctgc 1200  
ttcaggggta tgctaccaaa ggagcccttg ttgagatgca tggctctctt gatttgatgg 1260  
tacgaaacgg tatccaccct gatcattatg ttttcagcat tctaatatgt gcatacgcta 1320  
aacaaggga agtagatcag gcaatgcttg tgttcagcaa aatgaggcag caaggattga 1380  
atccgaatgc agtgacgtat ggagcagtta taggcatact ttgcaagtca ggcagagtag 1440  
aagaigctat gctttatctt gagcagatga tcatgaagg actaagccct ggcaacattg 1500  
tttataactc cctaattcat ggttttgtga cctgttaaca atgggagagg gctgaagagt 1560  
taattcttga aatgttggat cgaggcatct gtcgaacac tattttcttt aattcaataa 1620  
ttgacagtca ttgcaaagaa gggaggggta tagaatctga aaaactcttt gagctgatgg 1680  
tacgtatttg tgtgaagccc aatgtcatta cctacaatac tcttatcaat ggatattgtt 1740  
tggcaggtaa gatggatgaa gcaatgaagt tactttcttg catgggtctca gttgggttga 1800  
aacctaatac tgttacttat agcactttga ttaatggcta ctgcaaaatt agtaggatgg 1860  
aagacgcgtt agttcttttt aaggagatgg agagcagtgg tgttagtcct gatattatta 1920  
cgtataacat aattctgcaa ggtttatctt aaaccagaag aactgcctgc gcaaaagaac 1980  
tctatgttag gattaccgaa agtgggaacg agattgaact tagcacatac aacataatcc 2040  
ttcatggact ttgcaaaaac aaactcactg atgatgcact tcagatgttt cagaacctat 2100  
glttgatgga ttgaagctt gaggctagga ctttcaacat tatgattgat gcattgctta 2160  
aagttggcag aatgatgaa gccaaggatt tgtttgttgc tttctcgtct aacggtttag 2220  
cgaatta ttggacgtac aggttgatgg ctgaaaatat tataggacag gggttgctag 2280

aagaattgga tcaactcttt ctttcaatgg aggacaatgg ctgtacigt t gactctggca 2340  
tgctaaattt cattgttagg gaactgttgc agagaggatga gataaccagg gctggcactt 2400  
acccttccat gattgatgag aagcactttt cctcgaagc atccactgct tcttgttta 2460  
tagatctttt gtctggggga aaatatcaag aatattatag gtttctccct gaaaaataca 2520  
agtcctttat agaactcttg agctgctgaa gcattttgca gctttgaaat tctgtgttgg 2580  
aattcttttc tctacagtc ctattagagg agggatcttc tctgtatgtg taaatagcga 2640  
ggtatgtatg ccacctctcc gaattatttt tactgttggt cctagactgt aaacaagcaa 2700  
ttatgttatg ctgttgatgc cagaaaaaac ataaaagttt gtcgttatct ctactaacgg 2760  
atcataaagg gatttgtgac tggagtttca aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2819

<210> 85

<211> 2649

<212> DNA

<213> rice

<400> 85

ggtgccgccc acctctccgt ataagacaaa ctgcgttgcg gcgttgggtt ccgccggcgc 60  
tgctgctgca cctgtcagct agggcgggca tggcgcgccg cgccgcctcc cgcgctgttg 120  
gcgccccttcg ctcggaacggc tcgatccaag ggcgaggagg ccgcgcgggg ggcagtggcg 180  
ccgaggacgc acgccacgig ttcgacgaat tgctccgccg tggcaggggc gcctcgatct 240  
acggcttgaa ccgcgcccct gccgacgtcg cgcgtagacg ccccgcggcc gccgtgtccc 300  
gctacaaccg catggcccga gccggcgccg acgaggtaac tcccgacttg tgcacctacg 360  
gcattctcat cggttgcctg tgccgcgcgg gccgcttgga cctcggtttc gcggccttgg 420  
gcaatgtcat taagaaggga tttagagtgg acgccatcgc cttcacctct ctgctcaagg 480  
gccctctgtc cgacaagagg acgagcgacg caatggacat agtgcctcgc agaattgaccg 540  
agctcggctg cataccaaatt gtcttctcct acaatatct tctcaagggg ctgtgtgatg 600  
agaacagaag ccaagaagct ctcgagctgc tgcacatgat ggctgatgat cgaggaggag 660  
gtagcccacc tgatgtggig tcgtatacca ctgtcatcaa tggcttcttc aaagaggggg 720  
attcagacaa agcttacagt acataccatg aaatgctgga ccgggggatt ttacctgatg 780  
ttgtgaccia caactctatt attgctgcgt tatgcaaggc tcaagctatg gacaaagcca 840

tgaggtact taacaccatg gtaagaatg gtgcatgcc tgattgcatg acatataata 900  
gtattctgca tggatattgc tcttcagggc agccgaaaga ggctattgga tttctcaaaa 960  
agatgcgcag tgaagggtgc gaaccagatg ttgttactta tagcttgctc atggattatc 1020  
tttgcaagaa cggaagatgc atggaagcta gaaagatttt cgattctaig accaagaggg 1080  
gcctaaagcc tgaattact acctatggta ccttgcttca ggggtatgct accaaaggag 1140  
cccttggtga gatgcatggt ctcttggatt tgatggtagc aaacgggtatc caccctgatc 1200  
attatgtttt cagcattcta atatgtgcat acgctaaaca agggaaagta gatcaggcaa 1260  
tgcttgtgtt cagcaaaatg aggcagcaag gatagaatcc gaatgcagt acgtatggag 1320  
cagttatagg catactttgc aagtcaggca gagtagaaga tgctatgctt tattttgagc 1380  
agatgatcga tgaaggacta agccctggca acattgttta taactcccta attcatgggt 1440  
tgigcacctg taacaaatgg gagagggctg aagagttaat tcttgaaatg ttggatcgag 1500  
gcatctgtct gaacactatt tcttttaatt caataattga cagtcattgc aaagaaggga 1560  
gggttataga atctgaaaaa ctctttgagc tgatggtagc tattgggtgtg aagcccaatg 1620  
tcattaccta caatactctt atcaatggat attgcttggc aggttaagatg gatgaagcaa 1680  
tgaagttact tcttggtatg gtctcagttg ggttgaaacc taatactgtt acttatagca 1740  
ctttgatata tggctactgc aaaattagta ggaatggaaga cgcgttagtt ctttttaagg 1800  
agatggagag cagtggtgtt agtccctgata ttattacgta taacataatt ctgcaagggt 1860  
tatttcaaac cagaagaact gctgctgcaa aagaactcta tgttaggatt accgaaagtg 1920  
gaacgcagat tgaacttagc acatacaaca taatccttca tggactttgc aaaaacaaac 1980  
tcactgatga tgcacttcag atgtttcaga acctatgttt gatggatttg aagcttgagg 2040  
ctaggacttt caacattatg attgatgcat tgcitaaagt tggcagaaat gatgaagcca 2100  
aggatttgtt tgttgctttc tcttctaacg gtttagtgcc gaattatttg acgtacaggt 2160  
tgatggctga aaatattata ggacaggggt tgctagaaga attggatcaa ctctttcttt 2220  
caatggagga caatggctgt actgttgact ctggcatgct aaatttcatt gttagggaac 2280  
tgittgcagag aggtgagata accagggctg gcacttacct tccatgatt gatgagaagc 2340  
acttttccct cgaagcatcc actgcttccct tgtttataga tcttttgtct gggggaaaat 2400  
atcaagaata ttatagggtt cccccgaaa aatacaagtc ctttatagaa tctttgagct 2460  
gctgaagcat ttigcagctt tgaattctg tgttggaatt cttttctcct acagtcctat 2520  
tagaggaggg atcttctctg tatgtgtaaa tagcgaggta tgiatgccac ctctccgaat 2580

tatttttact ggggttccta gactgtaaac aagcaattat gttatgctgt tgaatgccaga 2640  
aaaaaaaaa 2649

<210> 86

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 86

cagttgggtt gaaacctaactg 24

<210> 87

<211> 24

<212> DNA

<213> artificial sequence

<220>

<223> Oligonucleotide primer for amplification

<400> 87

cactaaaccg ttagacgaga aagc 24

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/JP03/03154

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
Int.Cl<sup>7</sup> C12N15/29, C12Q1/68 // A01H1/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
Int.Cl<sup>7</sup> C12N15/29, C12Q1/68 // A01H1/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq,  
BIOSIS/WPI (DIALOG)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2000-139465 A (MITSUI CHEM. INC.), 23 May, 2000 (23.05.00), (Family: none)	1-13
A	WO 02/14506 A1 (JAPAN TOBACCO INC., SYNGENTA LTD. ZENECA LTD.), 21 February, 2002 (21.02.02), & AU 200178745 A & JP 2002-345485 A	1-13
P, A	Komori T. et al., Fine genetic mapping of the nuclear gene, <i>RF-1</i> , that restores the BT-type cytoplasmic male sterility in rice ( <i>Oryza sativa</i> L.) by PCR-based markers. Euphytica 2003, Vol.129, No.2, pages 241 to 247	1-13

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 26 May, 2003 (26.05.03)	Date of mailing of the international search report 24 June, 2003 (24.06.03)
--	--

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.



## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> C12N15/29, C12Q1/68//A01H1/00

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> C12N15/29, C12Q1/68//A01H1/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq,  
BIOSIS/WPI(DIALOG)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 2000-139465 A (MITSUI CHEM INC) 2000. 05. 23 ファミリーなし	1-13
A	WO 02/14506 A1 (JAPAN TOBACCO INC, SYNGENTA LTD, ZENECA LTD) 2002. 02. 21 & AU 200178745 A & JP 2002-345485 A	1-13
PA	Komori T. et al., Fine genetic mapping of the nuclear gene, <i>Rf-1</i> , that restores the BT-type cytoplasmic male sterility in rice ( <i>Oryza sativa</i> L.) by PCR-based makers. Euphytica 2003, Vol. 129, No. 2, p. 241-247	1-13

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

- の日の後に公表された文献  
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

26. 05. 03

国際調査報告の発送日

24.06.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

本間 夏子



4N

9637

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**